



---

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA

Predicción del deterioro, composición química  
y perfil de ácidos grasos en filetes de pescado  
mediante espectroscopia FTIR-ATR y  
Quimiometría

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
Doctor en Ciencias en Biotecnología

P R E S E N T A:

M. en C. Diana Maylet Hernández Martínez

DIRECTORAS:

Dra. Tzayhrí G. Gallardo Velázquez

Dra. Norma Almaraz Abarca



México, D. F.

Julio 2014.



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México, D.F. siendo las 12:30 horas del día 22 del mes de mayo del 2014 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas para examinar la tesis titulada:

### **Predicción del deterioro, composición química y perfil de ácidos grasos en filetes de pescado mediante espectroscopia FTIR-ATR y quimiometría**

Presentada por la alumna:

<b>Hernández</b> Apellido paterno	<b>Martínez</b> Apellido materno	<b>Diana Maylet</b> Nombre(s)
--------------------------------------	-------------------------------------	----------------------------------

Con registro: 

B	1	0	1	2	6	5
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

### **Doctorado en Biotecnología**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

### LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

Dra. Tzaythi Guadalupe Gallardo Velázquez

Dra. Norma Almaraz Abarca

Dr. Guillermo Ismael Osorio Revilla

Dra. Yadira Rivera Espinoza

Dra. Lidia Dorantes Álvarez

Dra. Cristian Jiménez Martínez

PRESIDENTE DEL COLEGIO

Dra. Griselda Ma. Chávez Camarillo





**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**  
**COORDINACION GENERAL DE POSTRADO E INVESTIGACION**

**CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de México, D.F. el día 26 del mes mayo del año 2014, la que suscribe Diana Maylet Hernández Martínez alumna del Programa de Doctorado en Biotecnología en RED con número de registro B101265, adscrita a la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Tzayhrí G. Gallardo Velázquez y la Dra. Norma Almaraz Abarca y cede los derechos del trabajo intitulado "Predicción del deterioro, composición química y perfil de ácidos grasos en filetes de pescado mediante espectroscopia FTIR-ATR y quimiometría", al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones: dhernandezmar@ipn.mx, tgallard@encb.ipn.mx y nalmaraz@ipn.mx . Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Diana Maylet Hernández Martínez  
Nombre y firma

Dra. Tzayhrí G. Gallardo Velázquez  
Nombre y firma

Dra. Norma Almaraz Abarca  
Nombre y firma



## Prediction of total fat, fatty acid composition and nutritional parameters in fish filets using MID-FTIR spectroscopy and chemometrics

Maylet Hernández-Martínez<sup>a</sup>, Tzayhrí Gallardo-Velázquez<sup>a,\*</sup>, Guillermo Osorio-Revilla<sup>b</sup>, Norma Almaraz-Abarca<sup>c</sup>, Alejandro Ponce-Mendoza<sup>d</sup>, María Soledad Vásquez-Murrieta<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Biofísica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN, Mexico City, Mexico

<sup>b</sup>Departamento de Ingeniería Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN, Mexico City, Mexico

<sup>c</sup>Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango-IPN, Durango, Mexico

<sup>d</sup>Centro Nacional de Investigaciones, Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento, de Sistemas Forestales (INIFAP), Mexico City, Mexico

<sup>e</sup>Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN, Mexico City, Mexico

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 22 August 2012

Received in revised form

17 December 2012

Accepted 3 January 2013

#### Keywords:

Fish fillet

MID-FTIR spectroscopy

PCA

Chemometric model

Omega-3 fatty acids

### ABSTRACT

Fourier transform mid-infrared (MID-FTIR) spectroscopy coupled with partial least square algorithm (PLS-1) was used to predict total fat, fatty acid composition, and nutritional parameters as content of omega-3/100 g of fish, and fish lipid quality index (FLQ index) of Atlantic bluefin tuna, crevalle jack, and Atlantic Spanish mackerel chilled filets. Chemometric model was developed with 84 samples from the 3 fish species at different season capture and varying the storage times. The performance of the regression model was evaluated according to coefficients of determination ( $R^2$ ), residual predictive deviation of cross-validation (RPDcv), and percentage relative difference (% RD). Chemometric model provided good reliability in the prediction of total fat ( $R^2 = 0.968$ , RPDcv = 4.76), fatty acids ( $R^2$  between 0.893 and 0.996, RPDcv between 2.35 and 7.68), FLQ index ( $R^2 = 0.997$ , RPDcv = 8.52), and content of omega-3/100 g of fish ( $R^2 = 0.968$ , RPDcv = 3.74). The results demonstrated that chemometric model could be applied simultaneously to chilled filets of these three species.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Fish is nutritionally important because is a source of excellent digestible protein, but it is also appreciated for its fatty acid content. Fish lipids are rich in polyunsaturated fatty acids (PUFA), especially the long-chain omega-3 eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5 n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, C22:6 n-3), which are important components of diet in order to prevent mental (Sinn, Milte, & Howe, 2009), and cardiovascular diseases (Kris-Eherton, Harris, & Appel, 2002).

Fish chemical composition is not constant, since it depends on species, age, sex, environment, diet, and season capture. The lipid fraction is the component showing the greatest variation, so the fatty acid composition can vary to a large extent, especially EPA or DHA contents (FAO, 1995).

On the other hand, fresh fish is a highly perishable product and its original properties can be modified from the time of capture to the time is used as food. Thus, during storage and processing, occur changes in components, mainly in protein and lipid fractions. This results in a significant deterioration of sensory quality and loss of nutritional value (Aubourg, 1999).

Fat content, especially fatty acid composition, is an important factor that determines quality and destination of fish flesh, since it is a raw material in food, pharmaceutical, chemical, agricultural and aquacultural industries (Diraman & Dibeklioglu, 2009).

Conventional procedures used for the determination of fatty acids involve the extraction of fat followed by conversion of the fatty acids to their methyl esters and analysis by Gas Chromatography (GC). This analysis is laborious, expensive, and in addition, generates toxic wastes. It is desirable, therefore, to develop a rapid, economic, reliable and friendly-to-environment analytical method for the evaluation of fish quality that does not require the use of chemical assays. These features are characteristic of infrared spectroscopic methods including the Fourier transform mid-infrared (MID-FTIR). While it is true that near-infrared (FT-NIR) spectroscopy has achieved greater

\* Corresponding author. Tel.: +52 55 57296000.

E-mail addresses: [gtzayhri@yahoo.com](mailto:gtzayhri@yahoo.com), [tgallard@enqb.ipn.mx](mailto:tgallard@enqb.ipn.mx) (T. Gallardo-Velázquez).

## Application of MIR-FTIR spectroscopy and chemometrics to the rapid prediction of fish fillet quality

### Aplicación de espectroscopía MIR-FTIR y quimiometría para la rápida predicción de la calidad de filetes de pescado

M. Hernández-Martínez<sup>a</sup>, T. Gallardo-Velázquez<sup>a\*</sup>, G. Osorio-Revilla<sup>b</sup>, N. Almaraz-Abarca<sup>c</sup> and E. Castañeda-Pérez<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Biofísica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomás, Del. Miguel Hidalgo, México D.F., CP 11340, Mexico; <sup>b</sup>Departamento de Ingeniería Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomás, Del. Miguel Hidalgo, México D.F., CP 11340, Mexico; <sup>c</sup>Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, CIIDIR-Durango, Instituto Politécnico Nacional, Calle Sigma S/N, Fracc. 20 de Noviembre II, Dgo. México, CP 34220, Mexico

(Received 15 November 2013; final version received 24 January 2014)

Fourier transform mid-infrared spectroscopy (MIR-FTIR) and a partial least square algorithm (PLS-1) were used to predict the deterioration indices, pH, and chemical composition of Atlantic bluefin tuna, crevalle jack, and Atlantic Spanish mackerel chilled fillets. To build calibration models, 90 samples from the 3 fish species were analysed to different seasons and were stored for various times. The performance of the regression models was evaluated based on the coefficients of determination ( $R^2$ ), residual predictive deviation of cross-validation (RPDcv), and percentage relative difference (% RD). Chemometric models provided good reliability in the prediction of the chemical composition ( $R^2$  between 0.969 and 0.992, RPDcv between 5.01 and 5.59%), the pH ( $R^2 = 0.987$ , RPDcv = 7.18), and can be used for screening of deterioration indices ( $R^2$  between 0.944 and 0.969, RPDcv between 3.21 and 3.67%). The results demonstrated that the MIR-FTIR coupled with the PLS-1 algorithm could be simultaneously applied to predict the chemical parameters of chilled fillets of three fish species.

**Keywords:** fish-fillet quality; MIR-FTIR spectroscopy; PLS algorithm; principal component analysis; fish chemical composition; chemometrics; deterioration indices

La espectroscopía infrarroja media por transformada de Fourier (MIR-FTIR) y el algoritmo PLS-1 fueron utilizados para predecir índices de deterioro, pH y composición química de filetes refrigerados de atún aleta azul, jurel y sierra. Para construir los modelos de regresión fueron analizadas 90 muestras de las 3 especies, en diferentes estaciones y diversos tiempos de almacenamiento. Se evaluó el comportamiento de los modelos con base en los coeficientes de determinación ( $R^2$ ), la desviación residual de predicción en la validación cruzada (RPDcv), y el porcentaje de diferencia relativa (%RD). Los modelos proporcionan una buena predicción de la composición química ( $R^2$  entre 0,969–0,992, RPDcv entre 5,01–5,59%), el pH ( $R^2 = 0,987$ , RPDcv = 7,18), y se pueden utilizar para análisis de reconocimiento de índices de deterioro ( $R^2$  entre 0,944–0,969, RPDcv entre 3,21–3,67%). Los resultados demostraron que la espectroscopía MIR-FTIR y el algoritmo PLS-1 pueden aplicarse simultáneamente para predecir parámetros químicos de filetes refrigerados.

**Palabras clave:** calidad de filetes de pescado; espectroscopía MIR-FTIR; algoritmo PLS; análisis de componentes principales; composición química del pescado; quimiometría; índices de deterioro

### Introduction

Fish is a highly perishable food commodity, and during storage, it suffers changes in chemical composition (i.e., protein and lipid fractions) that modify its nutritional attributes and reduces its shelf life (Aubourg, 1999). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) has estimated that the 25% losses in the fishery sector result from discarding in the sea or by chemical or microbial spoilage (Cakli, Kilinc, Cadun, Dincer, & Tolasa, 2007). In whole fish, areas, such as the eyes, gills, skin, and scales, can be examined to determine its freshness. However, when the fish has been filleted, the determination of its freshness is not as simple. The chemical composition and freshness are important factors that determine the quality of fish flesh (Connell, 1995). Industrial fish processors have a direct interest in the chemical composition of fish because they need to know the nature of the raw material such that they can correctly chill, freeze, smoke, can it (Food and Agriculture Organization [FAO],

2001) or control, and optimize the processing of the fishmeal (Cozzolino, Chree, Scaife, & Murray, 2005). In addition, the determination and preservation of the fish quality provides the consumer with wholesome and safe fish fillets at a good price.

Therefore, demand for high levels of quality and safe fish products requires appropriate analytical tools for quality control during its storage. The chemical methods to quantify fish composition (e.g., Kjeldahl method and Soxhlet method) and methods to assess the freshness of fish are time consuming, expensive, generate toxic wastes, and require large amounts of sample.

Fourier transform mid-infrared spectroscopy (MIR-FTIR) is a technique that replaces traditional methods of analysis in the field of rapid screening. MIR-FTIR spectra provide detailed information on the chemical structure and composition of samples. MIR-FTIR can be used as a fingerprint because specific absorption bands can be assigned to specific molecular bonds. This technique is fast, requires only a small sample size with

\*Corresponding author. Email: [gtzayhri@yahoo.com](mailto:gtzayhri@yahoo.com)

El presente proyecto de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación 1 del Departamento de Biofísica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, bajo la dirección de la Dra. Tzayhrí G. Gallardo Velázquez y la Dra. Norma Almaraz Abarca dentro del proyecto de investigación SIP-20120646 y con el apoyo del CONACyT.

## DEDICATORIA

A César Rodolfo, gracias por que día a día me sigues enseñando con tu valor, con tu creatividad y con tu sonrisa. Gracias por compartir esta aventura conmigo.

A Evelia y Marcelo, gracias por ser parte de mi vida, por seguir en ella, de ustedes he aprendido el valor del trabajo, la perseverancia y el amor incondicional. Los amo.

A José Luis, gracias por amarme tal como soy, con todo y mis tres cabezas. Gracias por tu apoyo en los días grises y por tu sonrisa en los días de luz.

A Ricardo David, ojalá y siga siendo ejemplo para ti, aunque sea, como dices, con el contra-ejemplo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Tzayhrí Gallardo y el Dr. Guillermo Osorio, gracias por su paciencia, por su gran apoyo y guía, pero sobre todo por su calidez humana, en el laboratorio me he sentido como en casa durante todos estos años.

A la Dra. Norma Almaraz, la Dra. Lidia Dorantes, la Dra. Cristian Hernández y la Dra. Yadira Rivera, gracias por sus aportaciones y por sus consejos en la realización de este trabajo.

Al Dr. Alejandro Ponce y la Dra. Soledad Vásquez, por su apoyo en el análisis de PCA.

Al M. en C. Juan Arturo Miranda, la Dra. Ma. Eugenia Jaramillo y la Dra. Norma Paniagua, por el préstamo de material vital en el trabajo.

Gracias a todos los que me acompañaron durante este viaje de 4 años, a los que estuvieron en las tardes interminables y en la alegría de los convivios y los congresos. Gracias a ti Lizeth y sobre todo a ti Heduardo.

## ÍNDICE GENERAL

<i>Glosario de abreviaturas</i> .....	15
<i>RESUMEN</i> .....	17
<i>ABSTRACT</i> .....	18
1. <i>INTRODUCCIÓN</i> .....	20
2. <i>ANTECEDENTES</i> .....	24
2.1 El pescado en México .....	24
2.1.1 El atún .....	25
2.1.2 La sierra .....	27
2.1.3 El jurel .....	28
2.2 Composición química del pescado .....	30
2.2.1 Proteínas y nitrógeno no proteico .....	31
2.2.2 Carbohidratos .....	32
2.2.3 Vitaminas y minerales .....	32
2.2.4 Lípidos .....	33
2.2.5 Ácidos Grasos .....	34
2.2.5.1 Ácidos grasos poliinsaturados .....	34
2.2.5.2 Ácidos grasos monoinsaturados .....	36
2.2.5.3 Ácidos grasos saturados .....	36
2.3 Índices nutricionales .....	37
2.4 Deterioro del pescado .....	39
2.4.1 Cambios autolíticos .....	39
2.4.2 Cambios bacteriológicos .....	40
2.4.3 Oxidación e hidrólisis .....	41
2.5 Importancia de la calidad del pescado .....	43
2.6 Métodos químicos para conocer la calidad del pescado .....	45
2.6.1 Potencial de hidrógeno (pH) .....	45
2.6.2 Nitrógeno volátil total .....	46
2.6.3 Trimetilamina .....	47
2.6.4 Índice de peróxido .....	47
2.6.5 Índice de TBARS .....	48

2.6.6 Cromatografía de gases .....	49
2.7 Espectroscopia MID-FTIR-ATR .....	50
2.7.1 Fundamentos teóricos de la espectroscopia MID-FTIR-ATR.....	51
2.7.2 Espectroscopia infrarroja media .....	52
2.7.3 Espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada.....	52
2.8 Quimiometría .....	54
2.8.1 Análisis de componentes principales.....	56
2.8.2 Calibración multivariante.....	57
2.8.2.1 Selección de las muestras.....	58
2.8.2.2 Registro de la señal analítica.....	59
2.8.2.3 Pretratamiento de datos .....	59
2.8.2.4 Establecimiento y optimización del modelo quimiométrico .....	62
2.8.2.5 Validación del modelo .....	64
2.8.2.6 Predicción de muestras desconocidas .....	65
2.9 Aplicaciones de la espectroscopia MID-FTIR-ATR acoplada a quimiometria .....	65
3. <i>JUSTIFICACIÓN</i> .....	68
4. <i>OBJETIVOS</i> .....	71
4.1 Objetivo general.....	71
4.2 Objetivos particulares .....	71
5. <i>MATERIALES Y MÉTODOS</i> .....	74
5.1 Materias primas .....	74
5.2 Reactivos .....	74
5.3 Material y equipo de laboratorio.....	75
5.4 Desarrollo experimental .....	77
5.5 Muestreo y manejo de la muestra .....	78
5.6 Métodos de análisis .....	78
5.6.1 Composición química .....	79
5.6.1.1 Determinación de humedad .....	79
5.6.1.2 Determinación de cenizas .....	79
5.6.1.3 Determinación de proteína .....	80

5.6.1.4	Determinación del contenido de grasa .....	81
5.6.2	Contenido de ácidos grasos por cromatografía de gases.....	82
5.6.2.1	Preparación de ésteres de metilo .....	82
5.6.2.2	Determinación de la composición de ácidos grasos por cromatografía de gases.....	83
5.7	Cálculo de índices de calidad nutricional del pescado .....	86
5.7	Índices de deterioro .....	88
5.7.1	Medición del deterioro de proteínas.....	88
5.7.2	Medición del pH.....	89
5.7.3	Determinación de la oxidación de lípidos.....	89
5.7.3.1	Calclo del índice de peróxido .....	90
5.7.3.2	Cálculo del índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico .....	91
5.8	Análisis estadístico de los valores analíticos .....	92
5.9	Análisis de componentes principales .....	92
5.10	Adquisición de espectros MID-FTIR-ATR .....	93
5.11	Desarrollo de los modelos quimiométricos de calibración.....	94
5.11.1	Selección de las mejores regiones espectrales .....	94
5.11.2	Pretratamiento de los espectros MID-FTIR-ATR .....	95
5.11.3	Selección del número de factores.....	95
5.11.4	Optimización .....	96
5.11.5	Predicción de nuevas muestras .....	99
6.	<i>RESULTADOS</i> .....	102
6.1	Composición química.....	102
6.2	Deterioro del pescado .....	104
6.2.1	Variación del pH .....	105
6.2.2	Deterioro de proteínas .....	107
6.2.3	Deterioro de grasas .....	111
6.3	Perfil de ácidos grasos.....	115
6.3.1	Perfil de ácidos grasos de la mezcla de estándares.....	115
6.3.2	Perfil de ácidos grasos de las muestras de pescado.....	117
6.4	Índices nutricionales .....	127

6.5	Análisis de componentes principales .....	130
6.6	Espectros MID-FTIR-ATR .....	134
6.7	Desarrollo de los modelos quimiométricos.....	138
6.7.1	Datos analíticos .....	138
6.7.2	Selección de la región espectral .....	142
6.7.3	Selección de los pretratamientos espectrales.....	144
6.7.4	Selección del número de factores.....	144
6.7.5	Gráficas de muestras atípicas .....	147
6.7.6	Resultados estadísticos de los modelos quimiométricos .....	151
6.7.7	Resultados de validación externa .....	157
6.7.7.1	Gráficas de valor estimado <i>versus</i> valor real.....	157
6.7.7.2	Resultados estadísticos.....	164
6.7.8	Comparación con otros estudios .....	169
6.7.9	Aplicación de los modelos .....	172
7.	<b>CONCLUSIONES</b> .....	175
7.1	Conclusiones de los análisis químicos.....	175
7.2	Conclusiones de los modelos quimiométricos .....	176
7.3	Conclusión general .....	176
8.	<b>REFERENCIAS</b> .....	178
	<b>ANEXO 1</b> .....	195
	<b>ANEXO 2</b> .....	196
	<b>ANEXO 3</b> .....	197
	<b>ANEXO 4</b> .....	198
	<b>ANEXO 5</b> .....	200
	<b>ANEXO 6</b> .....	201

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 5.1.</b> Parámetros cromatográficos óptimos para la cromatografía de gases de ésteres de metilo de ácidos grasos de pescado. ....	83
<b>Cuadro 6.1.</b> Caracterización química, por época del año, de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. ....	103
<b>Cuadro 6.2.</b> Composición química promedio de atún aleta azul, jurel y sierra, y su comparación con lo reportado en otras referencias. ....	104
<b>Cuadro 6.3.</b> Coeficientes de determinación ( $R^2$ ) de las curvas tipo, tiempos de retención y concentración de los estándares de ésteres de metilo de los ácidos grasos utilizados para identificar los ácidos grasos de las muestras. ....	116
<b>Cuadro 6.4.</b> Perfil de ácidos grasos promedio de atún aleta azul, jurel y sierra en tres épocas de año. ....	121
<b>Cuadro 6.5.</b> Descriptores estadísticos para 20 ácidos grasos individuales, grupos de ácidos grasos e índices nutricionales de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. ....	125
<b>Cuadro 6.6.</b> Contenido de ácidos grasos promedio de atún aleta azul, jurel y sierra, y su comparación con lo reportado en otras referencias. ....	126
<b>Cuadro 6.7.</b> Índices nutricionales de las especies analizadas en el presente trabajo y los reportados para otros alimentos. ....	128
<b>Cuadro 6.8.</b> Resumen de la asignación de bandas para grupos funcionales que se encuentran en los espectros MID-FTIR-ATR de atún aleta azul, jurel y sierra....	136
<b>Cuadro 6.9.</b> Valores máximos y mínimos de los parámetros de composición química de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. ....	139
<b>Cuadro 6.10.</b> Valores máximos y mínimos de los parámetros de pH e índices de deterioro de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. ....	140
<b>Cuadro 6.11.</b> Concentraciones máximas y mínimas de los 20 ácidos grasos individuales, grupos de ácidos grasos e índices nutricionales de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. ....	140
<b>Cuadro 6.12.</b> Regiones espectrales utilizadas en los modelos desarrollados. ....	142

<b>Cuadro 6.13.</b> Resultados estadísticos de los modelos quimiométricos optimizados desarrollados con el algoritmo PLS-1 para la predicción de la composición química, pH y los índices de deterioro en filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. ....	152
<b>Cuadro 6.14.</b> Resultados estadísticos de los modelos quimiométricos optimizados desarrollado con el algoritmo PLS-1 para la predicción del perfil de ácidos grasos e índices nutricionales en filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. ....	153
<b>Cuadro 6.15.</b> Clasificación de las regresiones en función del coeficiente de determinación.....	154
<b>Cuadro 6.16.</b> Clasificación del desempeño de predicción de un modelo y su aplicación de acuerdo a los valores de RPD.....	156
<b>Cuadro 6.17.</b> Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de atún evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 38 parámetros. ....	165
<b>Cuadro 6.18.</b> Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de sierra evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 38 parámetros. ....	166
<b>Cuadro 6.19.</b> Relación entre los resultados de la distancia total de Mahalanobis y la relación de residuales.....	169
<b>Cuadro 6.20.</b> Estudios quimiométricos para predecir la composición química de pescado y la composición de ácidos grasos en otras matrices.....	170

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 2.1.</b> Volumen de producción pesquera de las principales especies de pescado comercializadas en México.....	24
<b>Figura 2.2.</b> Atún aleta azul.....	25
<b>Figura 2.3.</b> Sierra.....	27
<b>Figura 2.4.</b> Jurel. ....	28
<b>Figura 2.5.</b> Representación esquemática de los ácidos eicosapentaenóico (EPA) y docosahexaenóico (DHA). ....	35
<b>Figura 2.6.</b> Reacción de MDA con el ácido 2-tiobarbitúrico para formar un cromógeno. ....	48
<b>Figura 2.7.</b> Tipos de vibraciones moleculares. ....	51
<b>Figura 2.8.</b> Diagrama esquemático de la medición de luz infrarroja en el espectrofotómetro. ....	53
<b>Figura 2.9.</b> Esquema del principio de funcionamiento del cristal ATR.....	54
<b>Figura 2.10.</b> a) Espectros sin tratamiento. Espectros con pretratamientos b) transformación variable normal estándar- SNV, b) Primera derivada, c) Segunda derivada. ....	61
<b>Figura 2.11.</b> Principio del algoritmo PLS-1. ....	63
<b>Figura 5.1.</b> Desarrollo experimental y tiempos de análisis. ....	77
<b>Figura 5.2.</b> Accesorio de reflectancia total atenuada horizontal (ATR).....	93
<b>Figura 6.1.</b> Evolución del valor del pH en filetes de atún aleta azul, jurel y sierra durante su almacenamiento a 0-0.5 °C. ....	106
<b>Figura 6.2.</b> Evolución del nitrógeno volátil total (NVT) en filetes atún aleta azul, jurel y sierra durante su almacenamiento a 0-0.5 °C.....	108
<b>Figura 6.3.</b> Evolución del contenido de trimetilamina (TMA) en filetes atún aleta azul, jurel y sierra durante su almacenamiento a 0-0.5 °C.. ....	109

<b>Figura 6.4.</b> Evolución del índice de peróxido (IP) en filetes de de atún aleta azul, jurel y sierra durante su almacenamiento a 0-0.5 °C.....	113
<b>Figura 6.5.</b> Evolución del índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) en filetes de atún aleta azul, jurel y sierra durante su almacenamiento a 0-0.5 °C.....	114
<b>Figura 6.6.</b> Cromatograma de la mezcla de estándares de ácidos grasos de origen marino (Restek 35066).....	117
<b>Figura 6.7.</b> Cromatograma de muestra de atún aleta azul (otoño). ....	118
<b>Figura 6.8.</b> Cromatograma de muestra de jurel (otoño).....	118
<b>Figura 6.9.</b> Cromatograma de muestra de sierra (verano). ....	119
<b>Figura 6.10.</b> Porcentaje de ácidos grasos más abundantes presentes en filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. ....	123
<b>Figura 6.11.</b> Porcentaje de ácidos grasos más abundantes presentes en filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. ....	124
<b>Figura 6.12.</b> Gráfica de cargas del análisis de componentes principales para filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. ....	131
<b>Figura 6.13.</b> Gráficas de dispersión 3D de las puntuaciones del análisis de componentes principales por especie a) atún aleta azul (verano, otoño, invierno); b) jurel (verano, otoño, invierno) y c) sierra (verano, otoño, invierno) .....	132
<b>Figura 6.14.</b> Gráfica de cargas y puntuaciones del análisis de componentes principales de ácidos grasos de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. ....	134
<b>Figura 6.15.</b> Espectros MID-FTIR-ATR de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra recién adquiridos.....	135
<b>Figura 6.16.</b> Espectros MID-FTIR-ATR en la región de 1800–1000 cm <sup>-1</sup> , para filetes de sierra recién adquiridos, al segundo, y al doceavo día de almacenamiento.....	137
<b>Figura 6.17.</b> Gráfica de influencia para el parámetro de grasa, a) Utilizando el intervalo espectral de 3100 a 828 cm <sup>-1</sup> , b) Eliminando zonas espectrales para optimizar el modelo. ....	143

<b>Figura 6.18.</b> Error estándar de predicción estimado (SECV) versus número de factores para el parámetro de grasa (a) y proteína (b).....	146
<b>Figura 6.19.</b> Gráfica de muestras atípicas (“outliers”) durante la calibración con el algoritmo PLS-1 para los parámetros de: a) humedad, b) grasa, c) proteína y d) cenizas. ....	148
<b>Figura 6.20.</b> Gráfica de muestras atípicas (“outliers”) durante la calibración con el algoritmo PLS-1 para los parámetros de: a) nitrógeno volátil total, b) trimetilamina, c) índice de peróxido, d) índice de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico y e) pH. ....	149
<b>Figura 6.21.</b> Gráfica de muestras atípicas (“outliers”) durante la calibración con el algoritmo PLS-1 para los parámetros de: a) Ácidos grasos saturados, b) Ácidos grasos monoinsaturados, c) Ácidos grasos poliinsaturados y d) Ácidos grasos omega-3. ....	150
<b>Figura 6.22.</b> Valores predichos versus valores reales para humedad (a), grasa total (b), proteína (c), y cenizas (d) de las muestras externas de atún aleta azul, jurel, y sierra.....	159
<b>Figura 6.23.</b> Valores predichos versus valores reales para pH (a), nitrógeno volátil total (b), trimetilamina (c), índice de peróxido (d) e índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (e) de las muestras externas de atún aleta azul, jurel y sierra.....	160
<b>Figura 6.24.</b> Valores predichos versus valores reales para índice de la calidad de los lípidos del pescado - %FLQ- (a), contenido de omega-3 /100 g filete (b), índice de aterogenicidad -IA- (c), índice de trombogenicidad -IT- (d) y relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos -HH- (e) de las muestras externas de atún aleta azul, jurel y sierra.....	161
<b>Figura 6.25.</b> Concentraciones predichas por el modelo <i>versus</i> concentraciones reales de ácidos grasos en muestras externas de atún aleta azul, jurel y sierra..	162
<b>Figura 6.26.</b> Representación esquemática de la aplicación de los modelos quimiométricos. ....	173

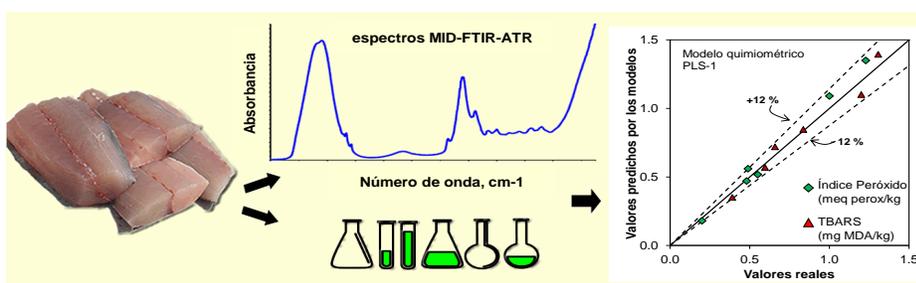
## Glosario de abreviaturas

AG	Ácidos grasos
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ATR	Reflectancia total atenuada
CV	Coeficiente de variación
DHA	Ácido docosahexaenóico (C22:6 n-3)
DM	Distancia de Mahalanobis
DM total	Distancia total de Mahalanobis
EFSA	European Food Safety Authority
EPA	Ácido eicosapentaenóico (C20:5 n-3)
FAME	Ésteres de metilo de ácidos grasos
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FID	Detector de ionización de flama
FLQ	Índice de la calidad de los lípidos del pescado
FT-NIR	Espectroscopia infrarroja cercana por transformada de Fourier
CG	Cromatografía de gases
HATR	Reflectancia total atenuada horizontal
HDL-colesterol	Lipoproteína de alta densidad-colesterol
HH	Relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos
IA	Índice de aterogenicidad
IP	Índice de peróxido
IR	Espectroscopia infrarroja
ISSFAL	International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids
IT	Índice de trombogenicidad
LDL-colesterol	Lipoproteína de baja densidad-colesterol
LOD	Límite de detección
LOQ	Límite de cuantificación
MD total	Distancia total de Mahalanobis
MDA	Malondialdehído
MID-FTIR	Espectroscopia infrarroja media por transformada de Fourier
MSC	Corrección multiplicativa de la luz dispersa
MUFA	Ácidos grasos monoinsaturados
NVT	Nitrógeno volátil total
Omega-3/100 g pescado	Gramos de ácidos grasos omega-3 (C22:6n-3+C20:5n-3+C18:3n-3) / 100 g de filete
OTMA	Óxido de trimetilamina
PCA	Análisis de componentes principales
PLS-1	Regresión de mínimos cuadrados parciales sin interacción de variables

PUFA	Ácidos grasos poliinsaturados
R <sup>2</sup>	Coefficiente de determinación
% RD	Porcentaje de diferencia relativa
R-error	Error residual
RPDcv	Desviación residual de predicción en la validación cruzada
RR	Relación de residuales
SD	Desviación estándar
SEC	Error estándar de calibración
SECV	Error estándar de validación cruzada
SEL	Error estándar de laboratorio
SFA	Ácidos grasos saturados
SNV	Transformación variable normal estándar
TBA	Ácido 2-tiobarbitúrico
TBARS	Índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico
TMA	Trimetilamina
C14:0	Ácido Mirístico
C14:1 c	Ácido Miristoléico
C16:0	Ácido Palmítico
C16:1 c	Ácido Palmitoléico
C18:0	Ácido Esteárico
C18:1 c	Ácido Oléico
C18:1 t	Ácido Vaccénico
C18:2 c	Ácido Linoléico
C18:3 c	Ácido $\gamma$ - Linoléico
C20:0	Ácido Araquídico
C20:1 c	Ácido Gadoleico
C20:2 c	Ácido Eicosadienóico
C20:4 c	Ácido Araquidónico
C22:0	Ácido Behénico
C20:3 c	Ácido Eicosatrienóico
C22:1 c	Ácido Erúcico
C20:5 c	Ácido Eicosapentaenóico
C24:0	Ácido Lignocérico
C24:1 c	Ácido Nervónico
C22:6 c	Ácido Docosahexaenóico

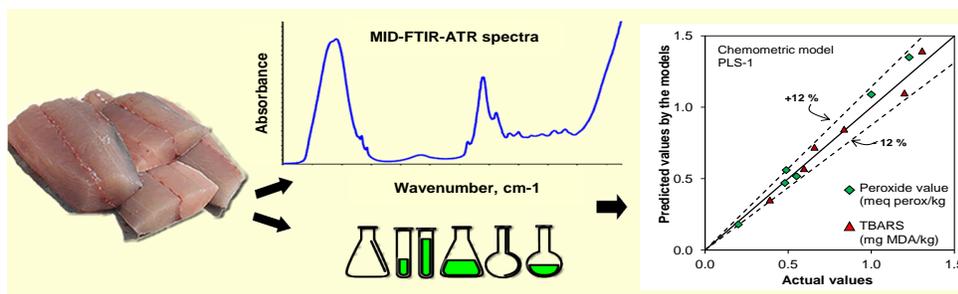
## RESUMEN

La composición química y la frescura son factores que determinan la calidad del pescado, el cual es apreciado por su proteína de fácil digestibilidad y su contenido de ácidos grasos poliinsaturados, en particular los omega-3. En el presente trabajo de investigación se utilizó la espectroscopia infrarroja media por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (MID-FTIR-ATR) y el algoritmo de mínimos cuadrados parciales (PLS-1) para predecir la composición química, composición de ácidos grasos, índices de deterioro e índices nutricionales de filetes refrigerados de atún aleta azul, jurel y sierra. Se desarrollaron cinco modelos quimiométricos para la predicción de 38 propiedades, se utilizaron 102 muestras de las tres especies, en diferentes épocas del año y distintos tiempos de almacenamiento. Los modelos optimizados fueron obtenidos usando bandas espectrales específicas entre 3816 y 792  $\text{cm}^{-1}$ , así como diversos pre-tratamientos espectrales. El desempeño de los modelos de regresión se evaluó con base en los coeficientes de determinación ( $R^2$ ), el error estándar de calibración (SEC), el error estándar de validación cruzada (SECV), la desviación residual de predicción de la validación cruzada (RPDcv) y el porcentaje de diferencia relativa (% RD). Los modelos quimiométricos proporcionan buena confiabilidad en la predicción de la composición química ( $R^2$  entre 0.969 – 0.992, RPDcv entre 5.01 – 5.59), ácidos grasos individuales ( $R^2$  entre 0.893 – 0.987, RPDcv entre 2.35 – 7.42), grupos de ácidos grasos ( $R^2$  entre 0.970 – 0.996, RPDcv entre 4.10 – 7.68), índices de deterioro y pH ( $R^2$  entre 0.944 – 0.987, RPDcv entre 3.21 – 7.18) e índices nutricionales ( $R^2$  entre 0.964 – 0.995, RPDcv entre 3.40 – 8.35). Los modelos quimiométricos desarrollados son una técnica sustentable que puede aplicarse en la predicción simultánea de parámetros químicos de filetes refrigerados de atún aleta azul, jurel y sierra, pero con 2 g de muestra, con el mínimo de preparación, sin reactivos, sin la generación de residuos tóxicos y en 10 min en lugar de horas como en los métodos convencionales.



## ABSTRACT

The chemical composition and freshness are factors that determine fish quality. Fish is appreciated for its protein of easy digestibility and its content of polyunsaturated fatty acids, particularly omega-3. In the present investigation the attenuated total reflectance Fourier transform mid infrared spectroscopy (MID-FTIR-ATR) coupled with partial least square algorithm (PLS-1) were used to predict chemical composition, fatty acid composition, deterioration and nutritional indices of Atlantic bluefin tuna, crevalle jack, and Atlantic Spanish mackerel chilled fillets. Five chemometric models for the prediction of 38 properties were developed, 102 samples from the three fish species were used at different season capture and varying the storage time. Optimized predictions were obtained using selected spectral bands between 3816 and 792  $\text{cm}^{-1}$  and spectral pre-treatments. The performance of the regression models was evaluated according to coefficients of determination ( $R^2$ ), standard error of calibration (SEC), standard error of cross-validation (SECV), residual predictive deviation of cross-validation (RPDcv), and percentage relative difference (% RD). Chemometric models provided good reliability in the prediction of chemical composition ( $R^2$  between 0.969 – 0.992, RPDcv between 5.01 – 5.59), individual fatty acids ( $R^2$  between 0.893 – 0.987, RPDcv between 2.35 – 7.42), groups of fatty acids ( $R^2$  between 0.970 – 0.996, RPDcv between 4.10 – 7.68), pH and deterioration indices ( $R^2$  between 0.944 – 0.987, RPDcv between 3.21 – 7.18) and nutritional indices ( $R^2$  between 0.964 – 0.995, RPDcv between 3.40 – 8.35). The developed chemometric models are a sustainable technique that could be simultaneously applied to predict the chemical parameters of chilled fillets of Atlantic bluefin tuna, crevalle jack, and Atlantic Spanish mackerel, but with a small amount of sample (2 g), with minimum preparation, without reagents, without the generation of toxic waste, and in 10 min as opposed to hours as in traditional methods.



# INTRODUCCIÓN

“People may doubt what you say, but they will believe what you do”

Lewis Cass

(1782-1866) Político y militar estadounidense

## 1. INTRODUCCIÓN

El pescado es nutricionalmente importante porque es una fuente de proteína de excelente digestibilidad, pero también es apreciado por su contenido de ácidos grasos. Los lípidos del pescado son ricos en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, por sus siglas en inglés), especialmente los de cadena larga omega-3, como el ácido eicosapentaenóico C20:5 n-3 (EPA, por sus siglas en inglés) y ácido docosahexaenóico C22:6 n-3 (DHA, por sus siglas en inglés); estos ácidos grasos son componentes importantes de la dieta porque ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares (Kris-Eherton *et al.*, 2003), enfermedades mentales y neurodegenerativas (Sinn *et al.*, 2009; De Meester & Watson, 2008).

La composición química de pescado no es constante, ya que depende de la especie, la edad, el sexo, el medio ambiente, la dieta y la época de captura, es por ello que es difícil contar con un valor promedio. Los procesadores de pescado a nivel industrial tienen un interés directo en conocer su composición química, ya que necesitan conocer previamente la naturaleza de la materia prima para aplicar correctamente las técnicas de refrigeración, congelación, ahumado, enlatado (FAO, 2004) o controlar y optimizar el proceso de obtención de harina o aceite de pescado (Cozzolino *et al.*, 2005).

Por otro lado, el pescado fresco es un producto altamente perecedero y sus propiedades originales se pueden modificar desde el momento de la captura hasta el momento en que se utiliza como alimento. Para los procesadores de pescado es importante conocer el grado de frescura inicial de éste, ya que durante los procesos a los que es sometido, la calidad del pescado no mejorará, sólo se mantendrá o incluso disminuirá (Guzmán-Murillo & Ascencio, 2006). De este modo, durante el almacenamiento y el procesamiento, se producen cambios en los componentes, principalmente en proteínas (por degradación) y de los lípidos (por oxidación). Esto da lugar a la pérdida de valor nutricional y a la reducción de su vida de anaquel (Aubourg, 1999). En el pescado entero hay áreas que pueden ser examinadas para reconocer su frescura, por ejemplo, ojos, agallas, escamas o

piel, pero cuando el pescado ha sido fileteado el reconocimiento de su frescura no es tan simple.

La composición química y la frescura son factores importantes que determinan la calidad del pescado (Connell, 1995), la preservación de ésta proporciona al consumidor filetes de pescado inocuos y a buen precio y los procesadores de pescado una materia prima apta para su procesamiento. Así, la demanda de altos niveles de calidad y seguridad en los productos pesqueros requiere de herramientas analíticas apropiadas para el control de calidad durante su almacenamiento, procesamiento y comercialización.

Los procedimientos convencionales utilizados para cuantificar la composición química del pescado (método de Kjeldahl, el método de Soxhlet, etc), el contenido de ácidos grasos (cromatografía de gases), y los métodos para evaluar la frescura del pescado son laboriosos, caros, requieren de grandes cantidades de muestra, generan desechos tóxicos y requieren de la limpieza del material que se utiliza en los análisis. Por lo tanto, es deseable desarrollar métodos analíticos rápidos, económicos, fiables y amigables con el medio ambiente. Estas particularidades son características de los métodos espectroscópicos como la espectroscopia infrarroja media por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (MID-FTIR-ATR).

La espectroscopia MID-FTIR-ATR acoplada a la quimiometría (análisis multivariante) es una técnica que reemplaza los métodos tradicionales de análisis en el campo de la detección rápida, ya que ha sido exitosa en la determinación de varias propiedades de los productos alimenticios, utilizando poca cantidad de muestra, requiriendo mínima preparación de la misma, y sin el uso de reactivos químicos.

La cuantificación de los ácidos grasos en filetes de pescado por espectroscopia MID-FTIR-ATR acoplada con quimiometría no se ha informado hasta el momento, y hay escasa literatura sobre el uso de esa técnica para el análisis de la frescura del pescado o su composición química, a pesar de que el

infrarrojo medio es también una región del espectro de radiación infrarroja usada para el análisis cuantitativo y cualitativo de muchos productos.

En el presente trabajo se desarrollaron 5 modelos multivariantes, llamados modelos quimiométricos, basado en la espectroscopia MID-FTIR-ATR para la predicción de la composición química (humedad, proteína, grasa total, cenizas), pH, índices de deterioro (nitrógeno volátil total, trimetilamina, índice de peróxido e índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico), 20 ácidos grasos individuales, incluyendo grupos de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y ácidos grasos omega-3, así como 5 parámetros nutricionales en relación al contenido de grasa. Los modelos desarrollados pueden aplicarse de manera simultánea a filetes refrigerados de 3 especies de pescado con alto valor comercial en el mercado mexicano (atún aleta azul, jurel y sierra). Este tipo de modelos de predicción no habían sido desarrollados para estas especies de pescado.

# ANTECEDENTES

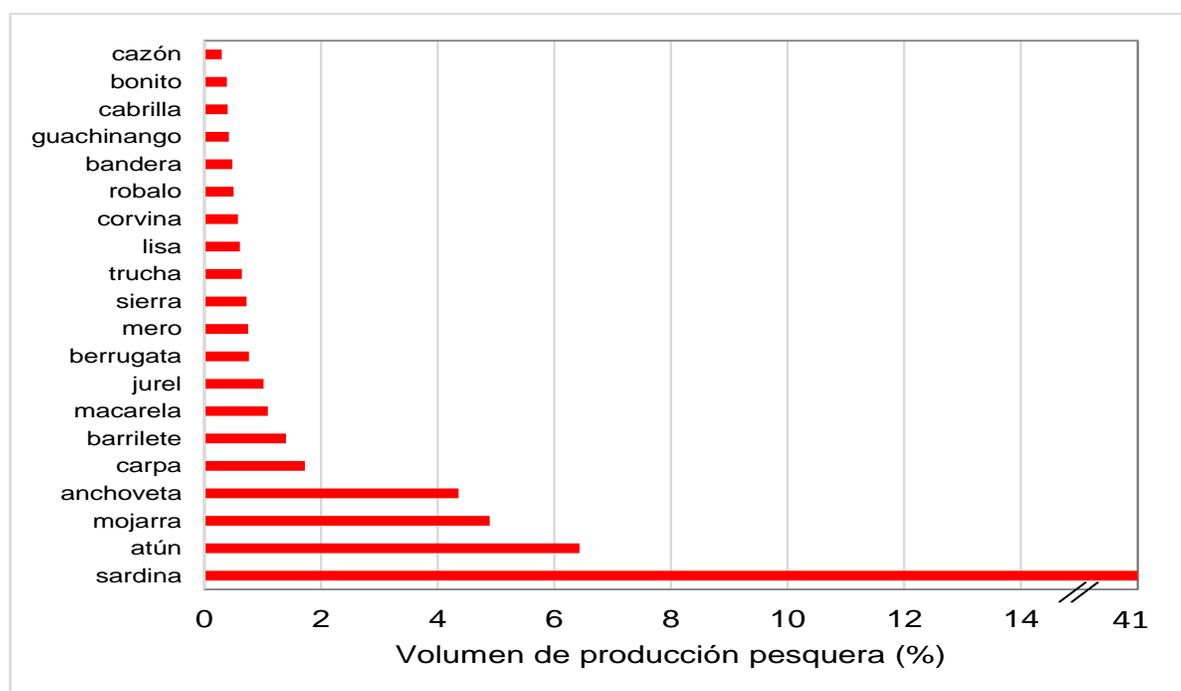
“Υπάρχει ένα μόνο καλό, η γνώση. Και ένα μόνο κακό, η άγνοια”  
 (“Sólo hay un bien, el conocimiento. Sólo hay un mal, la ignorancia”)

Σόκρατες  
(470 π.Χ. - 399 π.Χ.) Φιλόσοφο griego

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 El pescado en México

México tiene 11,592 kilómetros de costas, que representan un alto potencial de recursos pesqueros. En 2012, la producción pesquera total para consumo humano directo fue de 1,516,348.7 toneladas, es por ello que cifras de la FAO del 2010 sitúan a México en el lugar 17 de la producción a nivel global, lo que representa un 0.95% del total mundial (CONAPESCA, 2011). En la Figura 2.1 se muestra el volumen de producción pesquera de las principales especies de pescado comercializadas en México.



**Figura 2.1.** Volumen de producción pesquera de las principales especies de pescado comercializadas en México (CONAPESCA, 2011).

A pesar de que México se ubica en la posición 17 de producción mundial, su ubicación en términos de industrialización pesquera no es importante, esto muestra que se está generando materia prima en nuestro país, pero no se le da un valor agregado a esa producción. En el 2011 el volumen de pescado procesado fue del 27 % del volumen total de pesca, el resto del pescado se comercializó fresco para consumo humano directo. El pescado es materia prima para procesos

industriales como el congelado (54.98% de la cantidad industrializada), enlatado (18.58 %), fabricación de harina de pescado y aceite de pescado (29.90%) (CONAPESCA, 2011). Debido a esto, la caracterización de los recursos pesqueros con los que cuenta México sería de gran utilidad para incentivar a la industria y/o optimizar los procesos de control de calidad.

Tres de las especies de gran consumo en México y que son la materia prima del presente trabajo son el atún aleta azul, el jurel y la sierra.

### 2.1.1 El atún

Los túnidos por su volumen de captura se encuentran posicionados en el lugar 3 de la producción pesquera en México; sin embargo, por su valor económico lo encontramos en el lugar 2. Las principales entidades donde se captura son Sinaloa (61.03 %), Colima (20.76 %), Chiapas (9.09%) y Baja California (5.08 %) (CONAPESCA, 2011).



Orden: Perciformes  
Familia: Scombridae  
Género: *Thunnus*  
Especie: *thynnus*

**Figura 2.2.** Atún aleta azul.

En el 2012 se desembarcaron 97,512.6 toneladas (CONAPESCA, 2012). La tasa media de crecimiento anual de la producción en los últimos 10 años fue de -1.94%. En las exportaciones se encuentra en el lugar número 4 de las especies pesqueras, siendo España, Estados Unidos de América y Guatemala sus principales destinos (CONAPESCA, 2011). Este reporte incluye distintas especies denominadas atún (albacora, barrilete, bonito, atún patudo, atún aleta amarilla, atún aleta azul, entre otros). La especie utilizada en este trabajo fue atún aleta azul (Figura 2.2).

El atún aleta azul (*Thunnus thynnus*) es uno de los más grandes de los atunes. En comparación con otros túnidos, la cabeza es larga, algo puntiaguda y los ojos son pequeños. El cuerpo es color azul metálico arriba y a los lados inferiores y el vientre son de color plateado. La primera aleta dorsal es de color

amarillo o azul, la segunda es más grande que la primera y es de color rojo o marrón. Después de la aleta dorsal tiene 7 a 10 aletillas de color amarillo con bordes de color negro. La longitud máxima reportada es de 458 cm y el peso máximo registrado es 684 kg, aunque este atún normalmente alcanza un tamaño de 200 cm (Cifuentes *et al.*, 1997).

El atún se distribuye en todo el Océano Atlántico y el Pacífico en aguas subtropicales y templadas. Es una especie epipelágica<sup>1</sup> y oceánica. Puede tolerar una gama considerable de temperaturas y se ha observado tanto por encima como por debajo de la termoclina<sup>2</sup> (FMNH, 2013a). Los atunes son de sangre fría, pero gracias a la presencia de una compleja red de vasos sanguíneos (retia mirabile) su temperatura interna es varios grados mayor que la del ambiente que lo rodea, se cree que esto permite una descomposición más rápida de los azúcares, permitiendo un aprovechamiento veloz de energía química para el movimiento (BIOPESCA, 2009).

El atún forma cardúmenes, incluso con otras especies, y se agrupan con peces de la misma talla de una manera habitual. Los peces adultos pueden hacer migraciones transpacíficas: algunos hacia el este, y algunos hacia el oeste. Otros estudios han encontrado que un atún puede cruzar el Atlántico en menos de 60 días ya que pueden nadar a velocidades de hasta 72.5 km por hora (FMNH, 2013a).

Los atunes son peces extremadamente voraces, se alimentan durante todas las estaciones del año excepto en el periodo de reproducción. El atún se alimenta de peces más pequeños como el dorado, la sardina, la anchoa, el pez volador, la macarela, lanzones y otros túnidos; aunque también de sepias, calamares, pulpos, camarones, langostas y cangrejos. En el Atlántico, el desove se ha detectado sólo

---

<sup>1</sup> En oceanografía se refiere a las aguas marinas situadas entre la superficie y los 200 metros de profundidad.

<sup>2</sup> Gradiente vertical brusco de temperatura que se produce por la mezcla de aguas frías y calientes.

en dos áreas: el Mediterráneo y del Golfo de México. En el Pacífico, el desove ocurre fuera de las Filipinas. Poco se sabe sobre el desove de atún aleta azul, pero se conoce que ocurre en el Golfo de México de abril a junio, en las Filipinas de mayo a junio y en el Mediterráneo entre junio y agosto (FMNH, 2013a; Del-Moral & Vaca, 2009); por otro lado, a pesar de que grupos de atún aleta azul desovan todos los años, se cree que individualmente el desove es cada 2 o 3 años (Lioka et al., 2000). Después de este periodo, muchos de los adultos vuelven a migrar en busca de alimento (Del-Moral & Vaca, 2009).

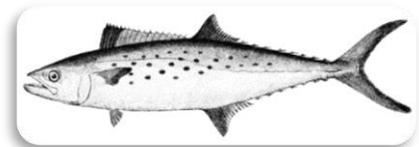
### 2.1.2 La sierra

La sierra (*Scomberomorus maculatus*) por su volumen de captura se encuentra posicionada en el lugar 15 de la producción pesquera en México; sin embargo, por su valor económico la encontramos en el lugar 16. Las principales entidades donde se captura son Sonora (26.07 %), Baja California (14.30 %), Veracruz (13.02 %) y Campeche (11.56 %).

En el 2012 se desembarcaron 10,950.8 toneladas (CONAPESCA, 2012). La tasa media de crecimiento anual de la producción en los últimos 10 años fue de 1.94% (CONAPESCA, 2011).

La sierra (Figura 2.3) tiene un color azul-verde iridiscente a lo largo de la superficie dorsal y color plata a lo largo de los lados del cuerpo. La caracterizan aproximadamente tres filas de grandes manchas elípticas marrones y cobrizas oscuras a lo largo de los lados del cuerpo. El número de manchas aumenta al aumentar su longitud. La sierra comúnmente crecen a un tamaño medio de 4 - 5 kg y la longitud máxima reportada de esta especie es de 91 cm de longitud (FMNH, 2013b).

La sierra es un pez epipelágico, que reside en profundidades que oscilan entre 10-35 m. A menudo se encuentran en cardúmenes muy grandes cerca de la



Orden: Perciformes  
Familia: Scombridae  
Género: *Scomberomorus*  
Especie: *maculatus*

**Figura 2.3.** Sierra.

superficie del agua. Frecuentan las islas de barrera<sup>3</sup> y los pasos asociados a estas islas, y rara vez se encuentran en aguas de baja salinidad (FMNH, 2013b).

La dieta de la sierra adulta se compone principalmente de peces más pequeños como arenques, jureles y sardinas, aunque también se alimenta en menor cantidad de camarones y cefalópodos (FMNH, 2013b).

Migran grandes distancias cerca de la costa, la sierra en el Océano Atlántico sigue la costa hacia el norte durante los meses de verano y de nuevo en los meses de otoño e invierno en aguas de la Florida. Algunas poblaciones de este pez emigran en la primavera por el Golfo de México hacia Texas. Esta especie también migra a lo largo de la costa de México hacia el sur entre agosto y noviembre, y luego hacia el norte de nuevo en marzo y abril (FMNH, 2013b). Se ha encontrado que la sierra se reproduce de abril a junio y el desove lo lleva a cabo en alta mar (Lucano-Ramírez *et al.*, 2011).

### 2.1.3 El jurel

El jurel por su volumen de captura se encuentra posicionado en el lugar 14 de la producción pesquera en México; sin embargo, por su valor económico la encontramos en el lugar 20.

Las principales entidades donde se captura son Campeche (31.89 %), Veracruz (17.45 %), Tabasco (17.76 %) y Baja California Sur (12.74 %). En el 2012 se desembarcaron 15,363.6 toneladas (CONAPESCA, 2011). Este reporte incluye distintas especies denominadas jurel (caballa, cocinero, cojinuda, jurel de castilla, jurel negro, entre otros). La especie utilizada en este trabajo es la denominada jurel común o caballo (Figura 2.4).



Orden: Perciformes  
Familia: Carangidae  
Género: *Caranx*  
Especie: *hipos*

**Figura 2.4. Jurel.**

---

<sup>3</sup> Las islas de barrera son cuerpos alargados de arena dispuestos generalmente en forma paralela a la línea de costa y muy cerca de estas.

El jurel caballo (*Caranx hippos*) es verdoso azulado o negro azulado por encima y amarillento o dorado abajo. Esto sirve para camuflarse con el agua si un depredador lo busca desde arriba o para camuflarse con la luz del sol si un depredador lo busca desde abajo. Las dos características más distinguibles de este pescado son el parche de escamas entre las aletas pélvicas y un punto negro ovalado entre las aletas pectorales. El tamaño máximo de un jurel es de 101 cm y peso de 25 kg, sin embargo, es común la talla de 60 cm (FMNH, 2013c).

El jurel es un pez pelágico<sup>4</sup>, se encuentra en ambientes oceánicos, estuarios o fluviales. Esto está influenciado por la etapa de la vida de los peces. Principalmente se encuentran a lo largo de la plataforma continental, pero pueden encontrarse individuos grandes en aguas tan profundas como de 100 m. Las larvas y juveniles se encuentran en las corrientes de aguas arriba y en aguas salobres. Los adultos, por otro lado, generalmente ocupan corrientes de aguas arriba, arrecifes, zonas de alta mar o zonas costeras de poca profundidad. El jurel vive en una gran variedad de temperaturas y salinidades. Los adultos generalmente habitan en zonas con temperaturas entre 18-33.6 °C y las larvas se encuentran en zonas con temperaturas entre 20.4-29.4 °C. Adultos y juveniles se encuentran generalmente en cardúmenes, pero los adultos de mayor talla pueden encontrarse nadando solos (FMNH, 2013c).

El jurel es un depredador diurno. Los adultos se alimentan en una variedad de peces, camarones e invertebrados. Los juveniles se alimentan principalmente de crustáceos y peces pequeños. La temporada de desove del jurel es desde principios de marzo hasta principios de septiembre. El desove se produce en alta mar en la costa atlántica del sudeste y en la Corriente del Golfo, incluyendo cualquier corriente asociada (FMNH, 2013c).

---

<sup>4</sup> La zona pelágica se refiere a las aguas abiertas del océano, lejos de la costa y fuera de la plataforma continental.

## **2.2 Composición química del pescado**

La composición química del pescado de origen marino, a diferencia del obtenido por acuicultura, varía considerablemente dependiendo de la especie, la edad, la talla, el sexo, la madurez sexual, los cambios sexuales relacionados con la reproducción, la alimentación, el estado de salud de los animales, la época del año, el nado migratorio, la zona de captura (Castro-González *et al.*, 2007; Huss, 1999); por ejemplo, usualmente el desove, independientemente de que ocurra luego de largas migraciones o no, requiere mayores niveles de energía. Los peces que tienen energía almacenada en la forma de lípidos recurrirán a ella. Las especies que llevan a cabo largas migraciones antes de alcanzar las zonas específicas de desove o ríos, degradarán los lípidos y las proteínas almacenadas para obtener energía, agotando las reservas de estos y originando una reducción de la condición biológica del pez. En adición, muchas especies generalmente no ingieren mucho alimento durante la migración para el desove y por lo tanto no tienen la capacidad de obtener energía a través de los alimentos (Huss, 1999).

Los lípidos son los componentes que muestran la mayor variación, por lo que la composición de ácidos grasos puede variar en gran medida, especialmente el contenido de ácido eicosapentaenóico (EPA) o docosaenóico (DHA) (Gram & Huss, 2000; FAO, 1995). La variación en el porcentaje de grasas se refleja en el porcentaje de agua, dado que la grasa y el agua normalmente constituyen el 80 % del filete. El contenido proteico es bastante constante en la mayoría de las especies, aunque se han observado variaciones debidas al agotamiento por largas migraciones por desove (FAO, 2004).

También, se ha reportado una considerable variación en la composición química dentro de la misma especie, variando inclusive más que entre diferentes especies (Silencio-Barrita, 2003), es por ello que un valor promedio en la composición de algunas especies de pescado, tales como aparecen en las tablas de valor nutritivo, tiene poco sentido para su utilización práctica.

## 2.2.1 Proteínas y nitrógeno no proteico

Las proteínas del músculo del pescado tienen un contenido de aminoácidos similar al de los mamíferos, pues tienen muchas semejanzas en cuanto a su estructura y función. Las fibras musculares de los peces requieren menos soporte estructural a las de los animales terrestres, ya que están apoyadas en una masa de agua. Debido a esto, el músculo de pescado tiende a tener menos tejido conectivo que los músculos de los animales terrestres, lo que resulta en una textura más tierna y de mayor digestibilidad (Se-Kwon, 2014).

Las proteínas del músculo del pez se pueden dividir en tres grupos (Huss, 1999):

1. Proteínas estructurales o miofibrilares (actina, miosina, tropomiosina, troponina, actinina), que constituyen el 70-80 % del contenido total de proteínas (comparado con el 40 % en mamíferos). Las proteínas estructurales conforman el aparato contráctil responsable de los movimientos musculares.
2. Proteínas sarcoplasmáticas (mioalbúmina, globulina y enzimas). Esta fracción constituye el 25-30 % del total de proteínas. La mayoría son enzimas que participan en el metabolismo celular, como en el caso de la conversión de energía anaeróbica del glucógeno a adenosín trifosfato (ATP). Las proteínas de la fracción sarcoplasmática son características de cada especie, por lo que permiten la distinción entre diferentes especies de peces.
3. Proteínas del tejido conectivo (colágeno), que constituyen aproximadamente el 3 % del total de las proteínas en teleósteos como los pelágicos (comparado con el 17 % en mamíferos).

Los compuestos extraíbles que contienen nitrógeno pueden definirse como compuestos de naturaleza no proteica, solubles en agua, de bajo peso molecular y que contienen nitrógeno. Esta fracción de nitrógeno no proteico (NNP) constituye en los teleósteos (como los peces pelágicos) entre un 9-18 % del nitrógeno total. Los principales componentes de esta fracción son: bases volátiles como el

amoniaco y el óxido de trimetilamina (OTMA), creatina, aminoácidos libres (como histidina y arginina), nucleótidos y bases púricas.

El OTMA constituye una parte característica e importante de la fracción NNP en las especies de agua de mar. Este compuesto se encuentra en todas las especies de peces de agua de mar en cantidades del 1-5 % del tejido muscular (peso seco), pero está virtualmente ausente en especies de agua dulce y en organismos terrestres (Hebard *et al.*, 1982). La cantidad de OTMA en el tejido muscular depende de la especie, estación del año, área de pesca, entre otros factores. La función del OTMA es incierta, aunque se cree que pueda servir como osmorregulador, anticongelante, que sea un residuo, o que se obtenga cuando el pez ingiere alimentos como el plancton que contienen OTMA (Huss, 1999).

### **2.2.2 Carbohidratos**

En los peces los carbohidratos se encuentran fundamentalmente en el hígado y en el músculo estriado, en el cual se encuentran en forma de glucógeno y como parte de los constituyentes químicos (pentosas) de los nucleótidos. Estos últimos son la fuente de ribosa liberada como una consecuencia de los cambios autolíticos *post mortem* (Huss, 1999). Los valores de glucógeno en los tejidos musculares varían entre el 0.05-0.85%, por lo cual no se consideran cuando se estima la composición química del pescado (Bertullo, 1975).

### **2.2.3 Vitaminas y minerales**

La cantidad de vitaminas y minerales es específica de la especie y, además, puede variar con la estación del año. En general, la carne de pescado es una buena fuente de vitamina B y en el caso de las especies grasas, también de vitaminas A y D. Respecto a los minerales, la carne de pescado se considera una fuente particularmente valiosa de calcio y fósforo, así como también de hierro y cobre, además los peces de mar tienen un alto contenido de yodo. Debe señalarse que el contenido de sodio en la carne de pescado es relativamente bajo, lo cual le hace apropiado para regímenes alimenticios de tal naturaleza (Huss, 1999).

## 2.2.4 Lípidos

Los lípidos presentes en las especies de peces óseos pueden ser divididos en dos grandes grupos: los fosfolípidos y los triglicéridos. Los fosfolípidos constituyen la estructura integral de la unidad de membranas en la célula, por lo tanto, a menudo se le denomina lípidos estructurales. Los triglicéridos son lípidos empleados para el almacenamiento de energía en depósitos de grasas.

Las especies de pescado se pueden clasificar por su contenido de grasa como magras, que son aquellas que almacenan lípidos sólo en el hígado, y como especies grasas las que almacenan lípidos en células distribuidas en otros tejidos del cuerpo. El contenido de lípidos en filetes de pescado magro es bajo y estable, mientras que el contenido de lípidos en filetes de especies grasas varía considerablemente. El atún y la sierra son especies grasas, ya que su contenido de lípidos puede alcanzar hasta el 5% y el jurel es una especie semigrasa, ya que su contenido de grasa es entre 2 y 5% (FSA, 2004).

La concentración de células grasas es mayor en el músculo oscuro que en el claro, dado que el músculo oscuro es capaz de metabolizar directamente lípidos para la obtención de energía, es por eso que los peces con actividad migratoria desarrollan más este músculo. Por otro lado, el músculo claro depende del glucógeno como fuente de energía para el metabolismo anaeróbico, cuyo transporte de energía es más rápido, pero genera fatiga por eso se utiliza sólo para movimientos súbitos (Huss, 1999).

Los lípidos de los peces difieren de los lípidos de los mamíferos. La principal diferencia radica en que están compuestos por ácidos grasos de cadena larga (14-22 átomos de carbono) con un alto grado de insaturación. El porcentaje total de ácidos grasos poliinsaturados con cuatro, cinco o seis dobles enlaces es levemente menor en los lípidos de peces de agua dulce (aproximadamente 70 %) que en los lípidos de peces de agua de mar (aproximadamente 88 %) (Stansby & Hall, 1967).

## **2.2.5 Ácidos Grasos**

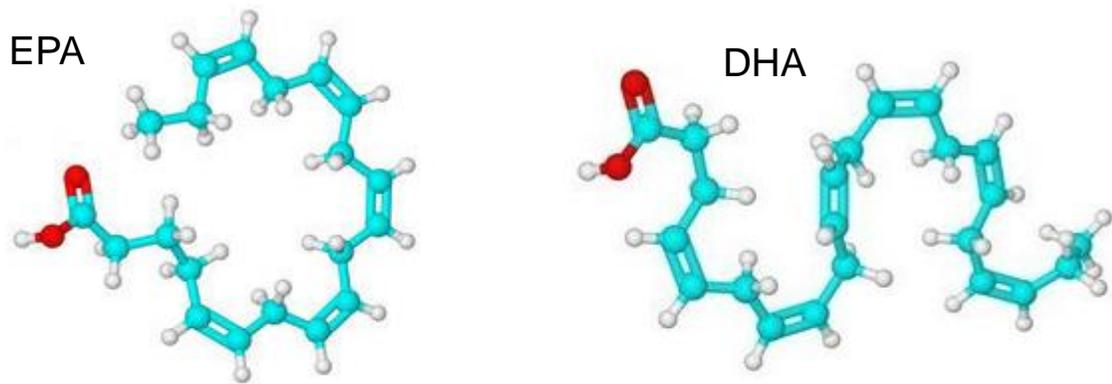
Hay tres tipos principales de ácidos grasos (AG) en el pescado: saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA).

### **2.2.5.1 Ácidos grasos poliinsaturados**

El pescado es rico en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, por sus siglas en inglés). Estructuralmente tienen una cadena hidrocarbonada larga (18-22 átomos de carbono) y contienen más de dos dobles enlaces. En general, los lípidos del pescado se caracterizan por un bajo contenido de ácido linoléico (C18:2) y linolénico (C18:3), pero un alto contenido de un tipo particular de PUFA, que son los ácidos grasos omega-3.

Estructuralmente, los AG omega-3 tienen una cadena hidrocarbonada larga (18-22 átomos de carbono), que contiene tres o más (hasta seis) dobles enlaces. El primer doble enlace se produce en el tercer átomo de carbono desde el extremo metilo. Estos ácidos grasos se denominan ácidos grasos "esenciales" porque no pueden ser producidos por el cuerpo (animal o humano) y deben ser suministrados por la dieta para la buena salud. En los pescados, mariscos y mamíferos marinos los AG omega-3 son obtenidos por el consumo de fitoplancton, el cual lo sintetiza (Connor & Connor, 2010). Los AG omega-3 encontrados en mayor concentración en el pescado son el AG eicosapentaenóico (20:5 n-3) (EPA) y el AG docosahexaenóico (22:6 n-3) (DHA), ver Figura 2.5.

Funcionalmente, los AG omega-3 pueden ejercer una amplia gama de efectos sobre la función celular. Además de ser una fuente de energía, estos ácidos grasos pueden actuar como factores determinantes de las propiedades fisicoquímicas de las membranas celulares, como sustratos para la producción de moléculas de señalización o el funcionamiento mediadores, y como moduladores en la regulación de la expresión génica. Por lo tanto, los AG omega-3 pueden afectar profundamente la actividad fisiológica y procesos patológicos a través de diferentes mecanismos (Connor & Connor, 2010).



**Figura 2.5.** Representación esquemática de los ácidos eicosapentaenóico (EPA) y docosahexaenóico (DHA).

Hay muchos estudios que muestran el efecto de los AG omega-3 en la salud, su consumo provee protección contra enfermedades cardiovasculares como la enfermedad coronaria<sup>5</sup> (CHD, por sus siglas en inglés), disminuye el riesgo de arritmias, de trombosis<sup>6</sup>, y de aterosclerosis<sup>7</sup>, ya que mejora la función del endotelio vascular; también reduce las respuestas inflamatorias, por lo que reduce el avance de la artritis reumatoide, asma y alergias; disminuye los triglicéridos y los niveles de lipoproteínas remanentes; disminuye la presión arterial; mejora el desarrollo cognitivo de los niños y reducen el deterioro cognoscitivo relacionado con la edad; reduce el riesgo de algunos tipos de cáncer como el de colon y el de mama (Connor & Connor, 2010; Sinn *et al.*, 2009; Kang, 2008; Lombardo & Chicco, 2006; Kris-Etherton *et al.*, 2003).

---

<sup>5</sup> También conocida como cardiopatía coronaria. Es caracterizada por un aporte limitado de oxígeno al músculo del corazón, presenta manifestaciones clínicas que van desde la angina de pecho al infarto de miocardio y la muerte repentina.

<sup>6</sup> Formación de coágulos de sangre (trombos) en las venas, que pueden desprenderse (émbolos) y alojarse en los vasos del corazón y los pulmones.

<sup>7</sup> Es la acumulación de lípidos y el engrosamiento de la capa íntima de una arteria.

### **2.2.5.2 Ácidos grasos monoinsaturados**

Los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA, por sus siglas en inglés) estructuralmente aparecen como una cadena hidrocarbonada de longitud mediana a larga (14-24 átomos de carbono), que contiene un doble enlace.

El MUFA de mayor importancia nutricional es el ácido oleico (C18:1c), tiene un comportamiento neutro o un menor efecto en la disminución del colesterol (Mensink *et al.*, 2003). Su consumo está asociado a una disminución de las enfermedades cardiovasculares (Pietinen *et al.*, 1997; Keys *et al.*, 1986), pues muchos investigadores han demostrado el efecto hipocolesterolémico de los MUFA cuando los SFA de la dieta son sustituidos por MUFA (Mensink *et al.*, 2003). Por otro lado, los MUFA no reducen los niveles de las lipoproteínas de alta densidad-colesterol (HDL-colesterol), contrariamente a lo que se ha observado con dietas ricas en PUFA (Pérez-Jiménez *et al.*, 2002).

### **2.2.5.3 Ácidos grasos saturados**

Los ácidos grasos saturados (SFA, por sus siglas en inglés) estructuralmente tienen una cadena hidrocarbonada de longitud mediana a larga (14-24 átomos de carbono), y no contienen dobles enlaces. El ácido graso más abundante es el ácido palmítico (C16:0), aunque otros ácidos grasos importantes son el esteárico (C18:0) y el mirístico (C14:0).

El consumo elevado de SFA aumenta el colesterol sérico, pero los ácidos grasos de cadenas medianas como el ácido láurico (C12:0), mirístico (C14:0) y el palmítico (C16:0) influyen significativamente en el aumento, tanto de las lipoproteínas de baja densidad-colesterol (LDL-colesterol) como del HDL-colesterol –hipercolesterolemia– (Mensink *et al.*, 2003), aunque pueden diferir en cuanto a la potencia. Por otra parte, los SFA de cadena corta y mediana (C4:0 a C10:0) y el ácido esteárico (C18:0) no causan una variación significativa de los niveles de colesterol (Bonanome & Grundy, 1988).

### 2.3 Índices nutricionales

La proporción de ácidos grasos (AG) consumidos en la dieta ha cambiado dramáticamente durante la evolución y civilización. Nuestros antepasados consumían alimentos con un balance de AG omega-6 / omega-3 de 1:1. Sin embargo, actualmente se consumen más lácteos, carne de bovino y aceites vegetales parcialmente hidrogenados, por lo que el perfil de los lípidos de la dieta en las sociedades occidentales ha cambiado drásticamente, así la relación de AG omega-6 / omega-3 consumidos varía de 15:1 a 20:1. Este cambio en la proporción, especialmente la deficiencia de ácidos grasos omega-3, genera un mayor riesgo de enfermedades modernas (por ejemplo, enfermedades cardiovasculares) (Kang, 2008); el balance de AG omega-3 y omega-6 es importante en la dieta humana, ya que estos tipos de AG tienen diferentes roles biológicos y compiten por las mismas enzimas en los procesos endógenos de elongación/desaturación (Kris-Etherton *et al.*, 2003); es por ello que actualmente se ha planteado el análisis de los alimentos a través de índices de calidad en relación a su contenido de ácidos grasos. Estos índices dan una visión de la calidad nutricional en comparación con otros alimentos, pues consideran los grupos de ácidos grasos y su vínculo con distintos padecimientos. Algunas de estas relaciones son:

1. La **calidad de los lípidos de la carne de pescado** (% FLQ) indica la relación de porcentaje en el que los principales PUFA omega-3 (EPA y DHA) aparecen en el músculo con respecto a la totalidad de los lípidos. Cuanto mayor sea el valor de este índice, mayor es la calidad de la fuente de lípidos de la dieta (Senso *et al.*, 2007; Abrami *et al.*, 1992).
2. **Índice de aterogenicidad** (IA) indica la relación entre los ácidos grasos aterogénicos (ácidos láurico, mirístico y palmítico) que favorecen la adhesión de lípidos a las células de los sistemas inmunológicos y circulatorio, y los AG anti-aterogénicos (MUFA y PUFA) que inhiben la agregación plaquetaria y disminuyen los niveles de ácidos grasos esterificados, colesterol, fosfolípidos e

impiden la aparición de micro y macro enfermedades coronarias (Ulbricht & Southgate, 1991).

Las LDL-colesterol y el factor activador de plaquetas (PAF), un producto de oxidación de LDL, inducen la respuesta inflamatoria que conduce a la aterogénesis. La presencia de antagonistas o de sustancias anti-PAF puede explicar los efectos beneficiosos de ciertos alimentos. En particular en el pescado de origen marino se tienen sustancias anhibitorias del PAF (Nasopoulou *et al*, 2007).

3. **Índice de trombogenicidad (IT)** muestra la capacidad para reducir la actividad plaquetaria, es decir la tendencia a formar coágulos en los vasos sanguíneos. Este índice se define como la relación entre los AG con actividad pro-trombogénica (SFA) y los AG con actividad anti-trombogénica (MUFA, PUFA omega-6 y PUFA omega-3) (Ulbricht & Southgate, 1991).

Una dieta rica en ácidos grasos omega-6 es pro-trombótica y pro-agregatoria, ya que promueve la viscosidad de la sangre, el vasoespasmo, y la vasoconstricción (Simopoulos, 1999).

4. La **proporción de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos (HH)** considera los efectos específicos de los ácidos grasos sobre el metabolismo del colesterol, un mayor valor de esta relación es deseable (Santos-Silva *et al.*, 2002).

5. **Contenido de ácidos grasos omega-3.** La European Food Safety Authority (EFSA, 2010) indica que de acuerdo a estudios epidemiológicos, el consumo de pescado o de suplementos alimenticios, debe ser entre 250 - 500 mg de EPA+DHA al día para disminuir el riesgo de la mortalidad por enfermedad coronaria (CHD) y la muerte súbita cardíaca. Aunque una ingesta de 250 mg por día de EPA+DHA para adultos sanos, parece ser suficiente para un prevención primaria de enfermedades cardiovasculares. Por otro lado, la FAO/WHO (2008) recomienda que los adultos consuman 300 mg por día, y

por lo menos 200 mg de DHA, las mujeres embarazadas o en lactancia. Aunque hay recomendaciones más estrictas, pues la International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids (ISSFAL, 2004), sugieren un consumo de 500 mg/día, aunque esta misma cantidad es sugerida por la FAO/WHO (2008) para una prevención secundaria, es decir, cuando ya se tiene alguna enfermedad cardiovascular. La Food and Drug Administration (FDA, 2004) recomienda no exceder más de 3 g por día de EPA y DHA, con no más de 2 g por día de un suplemento dietético.

## **2.4 Deterioro del pescado**

En el pescado se distinguen 4 fases post-mortem (Huss, 1999):

Fase 1. El pescado es muy fresco y tiene un sabor a algas marinas, dulce y delicado. El sabor puede ser muy ligeramente metálico.

Fase 2. Hay una pérdida del olor y del gusto característicos. La carne es neutral pero no tiene olores extraños. La textura se mantiene agradable.

Fase 3. Aparecen signos de deterioro. Al inicio de esta fase pueden aparecer olores y sabores ligeramente ácidos, afrutados y ligeramente amargos, en los últimos estadios de esta fase se desarrollan olores nauseabundos, dulces, como a col, amoniacales, sulfurosos y rancios. La textura se torna suave y aguada, o dura y seca.

Fase 4. El pescado puede caracterizarse como deteriorado y pútrido.

### **2.4.1 Cambios autolíticos**

En el pez vivo, el glucógeno (carbohidrato de almacenamiento) o las grasas son oxidadas por las enzimas del tejido, en una serie de reacciones las cuales finalmente producen dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), agua y adenosín trifosfato (ATP). Al momento de la muerte, el suministro de oxígeno al tejido muscular se interrumpe porque la sangre deja de ser bombeada por el corazón y no circula a

través de las branquias donde, en los peces vivos, es enriquecida con oxígeno. En condiciones de anaerobiosis, ocurre la glucólisis anaerobia; este proceso más ineficiente<sup>8</sup>, genera principalmente ácido láctico y ácido pirúvico como productos finales. Así, después de la muerte, el músculo anaeróbico no puede mantener su nivel normal de ATP, y el músculo entra en *rigor mortis*. Lo que resulta en la concomitante disminución del pH en el músculo. En algunos peces, el pH disminuye desde 6.8 hasta 6.1-6.5. Pero en atunes e hipoglosos se han encontrado valores tan bajos como 5.4-5.6 (Gram & Huss, 2000). En general, el músculo de pescado contiene un nivel relativamente bajo de glucógeno, comparado con los mamíferos (cuyo pH disminuye a 5.1), por esta razón se genera mucho menos ácido láctico después de la muerte.

La disminución del ATP libre en el músculo, ocasiona la interacción entre la actina y la miosina, las principales proteínas contráctiles. Esta interacción trae como resultado la reducción del músculo, ocasionando su endurecimiento y pérdida de la flexibilidad. La resolución del *rigor mortis* ocasiona el reblandecimiento (relajación) posterior del tejido muscular y se cree está relacionado con la activación de una o más enzimas musculares presentes en el pescado, las cuales digieren ciertos componentes del complejo actina-miosina.

#### **2.4.2 Cambios bacteriológicos**

El músculo de un pez saludable o de un pescado recién capturado es estéril, debido a que el sistema inmunológico del pez previene el crecimiento de bacterias en el músculo. Cuando el pez muere, el sistema inmunológico colapsa y las bacterias proliferan libremente.

Durante el almacenamiento, las bacterias colonizan la superficie de la piel y la base de las escamas. Pero sólo un número limitado de microorganismos realmente invade el músculo y el crecimiento microbiano se lleva a cabo

---

<sup>8</sup> Mediante la glucólisis anaerobia se producen 2 moles de ATP por cada mol de glucosa, en comparación con los 36 moles de ATP producidos por cada mol de glucosa oxidados aeróbicamente en la mitocondria del animal vivo.

principalmente en la superficie, el deterioro es probablemente una consecuencia de la difusión de enzimas bacterianas hacia el interior del músculo y de la difusión externa de nutrientes. Cada producto pesquero posee sus propias bacterias del deterioro<sup>9</sup> y es el número de estas bacterias, y no el número total de microorganismos, lo que guarda relación con la duración en almacén del producto (Huss, 1999).

Las bacterias producen la mayoría de los componentes volátiles (Shewan, 1962), después de la fase de latencia de crecimiento (fase lag). Estos incluyen trimetilamina (TMA), compuestos sulfurosos volátiles, aldehídos, cetonas, ésteres, hipoxantina, así como también otros compuestos de bajo peso molecular.

Algunas de las bacterias presentes en el pescado son capaces de llevar a cabo respiración (con la ventaja del ATP) empleando otras moléculas como receptor final de electrones. Es típico de muchas bacterias del deterioro emplear el OTMA como aceptor final de electrones durante la respiración anaeróbica. El componente reducido, la TMA, es uno de los compuestos dominantes del pescado deteriorado, tiene el olor típico del pescado.

### **2.4.3 Oxidación e hidrólisis**

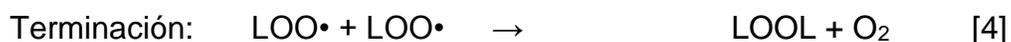
Durante el almacenamiento en refrigeración del pescado graso, los cambios en el contenido de lípidos son causados casi exclusivamente por la acción química (autooxidación) mas que por acción bacteriana. En los lípidos ocurren dos reacciones de importancia en el deterioro de la calidad: oxidación e hidrólisis.

La gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados presente en los lípidos del pescado les hace altamente susceptibles a la oxidación mediante un mecanismo autocatalítico. Cuanto mayor sea el número de dobles enlaces un ácido graso se oxidará más rápidamente (Coleman & Williams, 2007). Además, los ácidos grasos en la forma *cis* se oxidan más fácilmente que sus isómeros *trans* (Nawar, 1996).

---

<sup>9</sup> Grupo específico de bacterias que produce olores y sabores desagradables asociados con el deterioro.

En las reacciones de oxidación, el oxígeno se comporta como un biradical debido a sus dos electrones no apareados ( $\bullet\text{O-O}\bullet$ ). La oxidación de los lípidos se produce por una reacción en cadena de radicales libres que implica tres procesos: 1) iniciación, que es la formación de radicales, 2) propagación, que son las reacciones en cadena radicales libres, y (3) terminación, que es la formación de productos no-radicales (Frankel, 2005). A continuación se muestra la representación del proceso:



El proceso es iniciado con un iniciador (In) mediante la escisión de un átomo de hidrógeno del átomo de carbono central de la estructura pentahédrica presente en la mayoría de las acilcadenas de los ácidos grasos poliinsaturados (LH), formando un radical álcali [1]. El radical álcali ( $\text{L}\bullet$ ) tiene un electrón no apareado y reacciona muy rápidamente con el biradical oxígeno formando un radical peróxido ( $\text{LOO}\bullet$ ) [2], el cual puede nuevamente escindir un hidrógeno de otra acilcadena de un lípido insaturado produciendo un hidroperóxido (LOOH) y un nuevo radical  $\text{L}\bullet$  [3]. En la terminación [4-6], los radicales peróxido acumulados reaccionan entre sí, catalizados por iones de metales pesados (como hierro y cobre), hasta la formación de productos no radicales de cadenas carbonadas más cortas. Estos productos secundarios de autooxidación son principalmente aldehídos, cetonas, ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, pequeños ácidos carboxílicos y alcanos, y originan un extenso espectro de olores y sabores desagradables, y en

algunos casos coloración amarillenta, lo que impacta en la calidad sensorial del pescado.

Los hidroperóxidos de los ácidos grasos pueden también ser formados enzimáticamente, catalizados por la enzima lipoxigenasa, la cual está presente en los diferentes tejidos del pescado en cantidades variables. La enzima es inestable y probablemente tiene importancia en la oxidación de los lípidos sólo en el pescado fresco (Huss, 1999).

Respecto a la hidrólisis, durante el almacenamiento, los triglicéridos presentes en los depósitos de grasas son degradados a glicerol y ácidos grasos libres por acción de lipasas y fosfolipasas celulares (lipólisis). Los ácidos grasos que están unidos a fosfolípidos son principalmente del tipo poliinsaturados; en tal sentido, la hidrólisis generalmente también conduce a incrementar la oxidación. Además, los ácidos grasos por sí mismos pueden causar un sabor jabonoso.

La oxidación de los lípidos es un problema porque produce olores y sabores rancios en el pescado, que disminuyen la vida de anaquel y pueden alterar la textura y apariencia de los alimentos, pero sobre todo disminuir la calidad nutricional y la inocuidad (Alamed, 2008).

## ***2.5 Importancia de la calidad del pescado***

La calidad del pescado se puede entender como calidad sensorial (buen aspecto, frescura), calidad nutricional (proteínas, ácidos grasos, vitaminas, minerales) y la calidad sanitaria (inocuidad<sup>10</sup>).

El pescado fresco es un producto altamente perecedero y sus propiedades originales se pueden modificar desde el momento de la captura, durante su almacenamiento en los canales de distribución y comercialización, así como durante su procesamiento. Esto produce cambios en los componentes,

---

<sup>10</sup> Lograr que un alimento sea seguro al consumirlo, libre de agentes causantes de daño y/o enfermedad.

principalmente en proteínas (por degradación) y en los lípidos (por oxidación), dando lugar a cambios sensoriales, la pérdida de valor nutricional y a la reducción de su vida de anaquel (Aubourg, 1999), es decir, genera un menoscabo de la calidad.

Para su conservación, los productos marinos son tradicionalmente enfriados y almacenados en hielo en forma de hojuelas (Whittle *et al.*, 1990) o refrigerados en agua de mar (Kraus, 1992). Para prolongar la vida de almacenamiento del pescado, éste es almacenado, ya sea eviscerado, o bien fileteado. Con esto se evita poner en contacto la carne de pescado con las bacterias del sistema digestivo, sin embargo la evisceración y fileteado significan exponer las superficies de corte al aire, lo que las hace más susceptibles a la oxidación de las grasas y su decoloración (Cakli *et al.*, 2007).

En el pescado entero, la evaluación sensorial de áreas como ojos (claridad, forma), branquias (color, olor), escamas o piel (manchas, firmeza, olor), permite reconocer su frescura, pero cuando el pescado ha sido fileteado el reconocimiento de ésta no es tan simple.

Conocer la calidad del pescado no sólo es de interés para las empresas que distribuyen y procesan pescado para consumo humano directo. También, el pescado es materia prima para diversos subproductos como aceite y harina de pescado, es por ello que caracterizar el pescado permite controlar y optimizar dichos procesos (Se-Kwon, 2014; Cozzolino *et al.*, 2005; Cifuentes, 1995). En estos procesos, las materias primas pueden ser especies de talla pequeña, de poca o ninguna demanda para el consumo humano, o bien son recortes obtenidos del procesamiento de pescado para consumo humano (cerca de 20-25%), por ejemplo de especies como el atún (Se-Kwon, 2014).

En las industrias de procesamiento de pescado, es necesario evaluar la calidad de la materia prima, a través de métodos de análisis, principalmente para determinar su contenido de proteínas, agua, grasas y cenizas (Cifuentes, 1995), por ejemplo para aplicar correctamente las técnicas de refrigeración, congelación,

ahumado y enlatado (FAO, 2004). También es importante conocer el grado de frescura inicial del pescado, ya que durante los procesos a los que es sometido, la calidad del pescado no mejorará, sólo se mantendrá o incluso disminuirá (Guzmán-Murillo & Ascencio, 2006). Conocer la naturaleza de la materia prima es requisito para elegir el tipo de técnicas de procesamiento que deben ser aplicadas para cierto tipo de materia prima (Se-Kwon, 2014), o bien la pertinencia de ésta para cierto proceso.

Por ejemplo, el contenido de grasa del pescado, tipo de ácidos grasos presentes y el grado de oxidación de estos, son características que determinan el destino del aceite o harina obtenida. La harina de pescado tiene importancia en la acuicultura y ganadería; y el aceite de pescado puede ser destinado a las industrias de alimentos (margarinas, fórmulas lácteas, aceite de cocina); farmacéuticas, para la obtención de ácidos grasos omega-3, que son valiosos alimentos funcionales (Alamed, 2008); para la alimentación animal (mascotas, acuicultura, ganadería) o en la industria química (pinturas, lubricantes, tintas, jabones) (Se-Kwon, 2014; Diraman & Dibeklioglu, 2009).

## **2.6 Métodos químicos para conocer la calidad del pescado**

Los métodos sensoriales son de utilidad para identificar productos de muy buena o de baja calidad sensorial, son de bajo costo, pero dependen de la sensibilidad del evaluador. Por otro lado, los métodos químicos dan una mayor certeza del deterioro del producto, y pueden ser usados para conocer la calidad sanitaria y nutricional del pescado. Las desventajas de los métodos químicos es que requieren de equipo especializado, capacitación para desarrollarlos, mayor tiempo para realizarlos y son más costosos. Algunos análisis de importancia en la evaluación del pescado son:

### **2.6.1 Potencial de hidrógeno (pH)**

Debido a la actividad de enzimas y bacterias, en el pescado se produce un desplazamiento del equilibrio redox, lo cual origina un cambio en la concentración

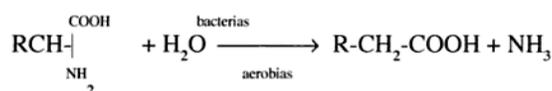
de iones hidrógeno libres y como consecuencia una variación del pH. El valor de pH no depende únicamente de la especie, sino de las artes de pesca utilizadas y del tratamiento postcaptura recibido por el pescado (Durazo, 2006). La determinación del pH por si sola permite emitir criterios limitados sobre la calidad, pero el valor de pH puede ser utilizado como parámetro indicador de la capacidad de retención de agua del pescado antes de su procesamiento.

## 2.6.2 Nitrógeno volátil total

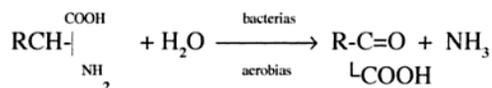
La determinación de nitrógeno volátil total (NVT) es uno de los métodos más ampliamente usado en la evaluación de la calidad de los productos pesqueros. Es un término general que incluye la medición de trimetilamina (producida por deterioro bacteriano), dimetilamina (producida por enzimas autolíticas durante el almacenamiento en congelación), amoníaco (producido por desaminación de aminoácidos y catabolitos de nucleótidos) y otros compuestos nitrogenados básicos volátiles asociados con el deterioro de los productos pesqueros (Malle & Poumeyrol, 1989). El NVT refleja cambios importantes después de algunos días en almacenamiento; es relativamente simple de determinar, pero tardado y requiere de instrumental específico.

El NVT se puede generar como producto de la degradación de compuestos nitrogenados como aminoácidos o urea, de acuerdo con las siguientes reacciones (Durazo, 2006):

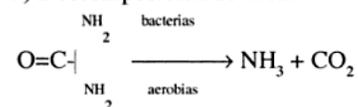
### 1) Hidrólisis desaminativa.



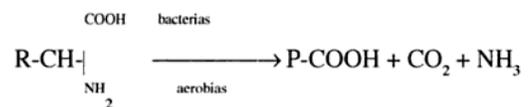
### 2) Oxidación desaminativa.



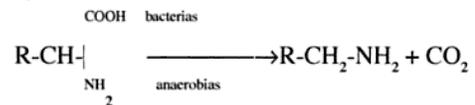
### 3) Descomposición de urea.



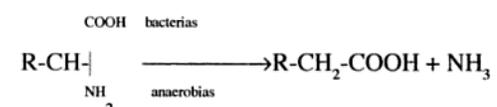
### 4) Descarboxilación desaminativa.



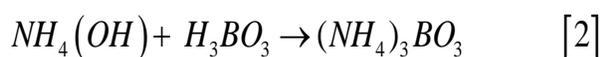
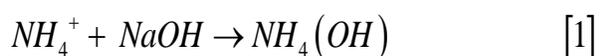
### 5) Descarboxilación.



### 6) Reducción desaminativa.



La determinación de NVT se realiza comúnmente mediante métodos de difusión o de destilación, pudiendo presentar ambas metodologías diversas variantes. El método de destilación puede realizarse por destilación simple o mediante arrastre de vapor (técnica de Malle & Poumeyrol, 1989). Esta última se basa en la desprotección de la muestra, liberación de las bases volátiles en medio alcalino [1], recuperación de las bases volátiles en solución de ácido bórico [2] (la reacción forma iones borato que son proporcionales a la cantidad de nitrógeno extraído) y cuantificación por titulación [3]. A continuación se muestran las diferentes etapas del proceso (Pons, 2005):

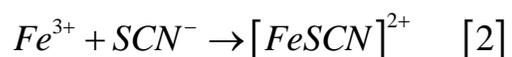
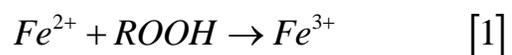


### 2.6.3 Trimetilamina

La determinación de TMA, tiene el mismo fundamento que la determinación de NVT, sólo que antes de la reacción con el medio alcalino, se agrega formaldehído que acompleja las aminas primarias y secundarias, dejando únicamente las terciarias que son destiladas por arrastre de vapor de agua.

### 2.6.4 Índice de peróxido

El índice de peróxido (IP) es uno de los métodos más comúnmente usados para medir el grado de oxidación en alimentos. El método del tiocianato férrico (Shantha & Decker, 1994) es más sensible que otros métodos, ya que requiere un tamaño de muestra más pequeño, a diferencia del método 965.33 de la AOAC (2002). Este es un método colorimétrico indirecto, se basa en la oxidación de los iones ferrosos (II) a férricos (III) debido a los peróxidos presentes en la muestra [1], posteriormente la oxidación es cuantificada colorimétricamente como tiocianato férrico, que es un complejo de color rojo característico [2], como a continuación se muestra:



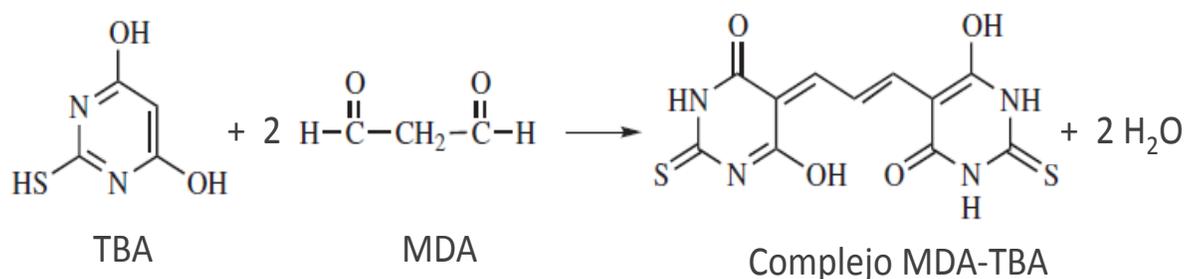
En aceites, el índice de peróxido se puede analizar directamente, pero en sistemas de alimentos, tales como emulsiones y tejidos musculares, el lípido primero deberá extraerse mediante la mezcla con disolventes. El índice de peróxido es una medida empírica de oxidación, que es útil para las muestras que se oxidan a niveles relativamente bajos en condiciones suaves de manera que los hidroperóxidos no se descomponen de forma apreciable (Frankel, 2005).

### 2.6.5 Índice de TBARS

El índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS, por sus siglas en inglés), es el método usado para medir el principal producto de oxidación secundaria de los lípidos, que es el malonaldehído (MDA).

El fundamento de esta prueba es la medición espectrofotométrica de absorbancia a 532-535 nm, del complejo color rosa que se forma entre el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) y el MDA. El complejo de color rosa es formado de la condensación de dos moles de TBA con un mol de MDA bajo condiciones ácidas y con temperatura, ver Figura 2.6.

El análisis se efectúa después de eliminar los pigmentos del alimento, o en la fracción que se recolecta de una destilación. Debido a que no es específica la reacción para el malonaldehído algunas veces el resultado se reporta como sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS).



**Figura 2.6.** Reacción de MDA con el ácido 2-tiobarbitúrico para formar un cromógeno.

## 2.6.6 Cromatografía de gases

La cromatografía de gases (CG) es el método analítico más empleado para la determinación de ácidos grasos. Los procedimientos cromatográficos son precisos y exactos para la determinación de ácidos grasos en alimentos, pero requieren de la previa derivatización de los ácidos grasos. La derivatización es una práctica muy común en la CG, consiste en una modificación química de los lípidos, en esta reacción los tres ácidos grasos de los triglicéridos se eliminan de la cadena principal de glicerol y se convierten en ésteres de metilo de ácidos grasos (FAME, por sus siglas en inglés); esto mejora la volatilidad y estabilidad de la muestra, lo que reduce el tiempo de retención y aumenta la sensibilidad del método.

En la CG se emplea una delgada y estrecha columna, denominada columna capilar, en ella se separan los AG de acuerdo con su afinidad (atracción química) a la fase estacionaria de la pared de la columna. De esta manera, los constituyentes de la muestra se separan y eluyen en diferentes tiempos. Los datos generados a partir de CG se llaman cromatograma, que son una serie de picos separados en el tiempo que corresponden a las distintas especies químicas en la muestra. Los componentes individuales de la muestra se identifican por su posición del pico y cuantificados por su área relativa del pico (Kramer *et al.*, 2013).

Los procedimientos de CG han sido aceptados como los preferidos para la identificación y cuantificación de ácidos grasos individuales, pero consumen mucho tiempo, son costosos y requieren de complicadas preparaciones de la muestra y procedimientos de extracción que usan grandes cantidades de químicos altamente tóxicos, inflamables y corrosivos. Además, la exactitud y fiabilidad de los métodos depende de la resolución e identificación de todos los picos. Por ello, estos métodos son algo complicados y no son adecuados para aplicaciones rutinarias (Hernández-Martínez, 2010a).

## **2.7 Espectroscopia MID-FTIR-ATR**

La espectroscopia infrarroja media por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (MID-FTIR-ATR) acoplada a la quimiometría (análisis multivariante) es una técnica que reemplaza los métodos tradicionales de análisis en el campo de la detección rápida. Los espectros MID-FTIR-ATR se consideran una huella dactilar de la muestra, porque bandas de absorción específicas pueden ser asignadas a enlaces moleculares específicos, es decir, proporcionan información detallada sobre la estructura química y la composición de la muestra. Con la ayuda de un software estadístico especializado se puede manipular la información espectral y es posible realizar calibraciones.

Esta técnica presenta algunas ventajas frente a los métodos químicos convencionales: es rápida, puede determinar simultáneamente varias propiedades de los productos alimenticios con una porción mínima de la muestra (2 g) prácticamente sin pretratamiento, no requiere el uso de reactivos y disolventes químicos dañinos al ambiente y a quienes los manipulan, no requieren del acondicionamiento y limpieza del material de laboratorio que genera residuos y contaminación ambiental; y en consecuencia, a la larga es más rentable que los métodos tradicionales de análisis. Por lo tanto, la espectroscopia MID-FTIR-ATR tiene el potencial para ser usada en análisis de rutina por su facilidad de uso y el relativamente bajo costo financiero de obtener y manejar el equipo (Reid *et al.*, 2006).

Otras técnicas espectroscópicas como la espectroscopia de infrarrojo cercano (FT-NIR), la espectroscopia Raman, la espectroscopia de resonancia magnética nuclear y de imagen espectral también se han desarrollado con éxito para el análisis de alimentos, pero las tres últimas son muy costosas, y no son fáciles de usar para la detección en línea (Cheng *et al.*, 2013). Si bien es cierto que la espectroscopia FT-NIR ha alcanzado una mayor importancia en el análisis de pescado, se requieren accesorios costosos como la esfera de integración o la sonda de fibra óptica. Por otro lado, el reporte de aplicaciones de la espectroscopia MID-FTIR-ATR en este sector ha aumentado en la última década y

su uso se ha generalizado en la industria (De Fuentes *et al.*, 2008). La espectroscopia MID-FTIR-ATR proporciona una mejor especificidad que los instrumentos FT-NIR, ya que la información dada por esta última se basa en sobretonos y combinaciones de vibraciones moleculares, que son menos sensibles e intensas que la información obtenida por espectroscopia MID-FTIR-ATR (Karoui *et al.*, 2010).

### 2.7.1 Fundamentos teóricos de la espectroscopia MID-FTIR-ATR

La espectroscopia infrarroja (IR) es el estudio de la interacción de las ondas electromagnéticas infrarrojas y la materia. El principio fundamental se basa en que al interactuar la radiación infrarroja con una molécula, la energía incidente a una frecuencia específica se absorbe cuando coincide con la frecuencia de vibración de un movimiento molecular específico, produciendo vibración en los enlaces químicos de la molécula, generando un cambio neto en el momento dipolar intrínseco de la molécula, esto se traduce en vibraciones de dos tipos:

Vibraciones moleculares de tensión y vibraciones de flexión. En una vibración de tensión hay un cambio continuo en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos, existen dos tipos: asimétrica y simétrica. Mientras que en las vibraciones de flexión se presenta un cambio en el ángulo entre dos enlaces, hay cuatro tipos: tijereteo, torsión, balanceo y aleteo (Hernández-Martínez, 2010a) (Figura 2.7).



**Figura 2.7.** Tipos de vibraciones moleculares.

### **2.7.2 Espectroscopia infrarroja media**

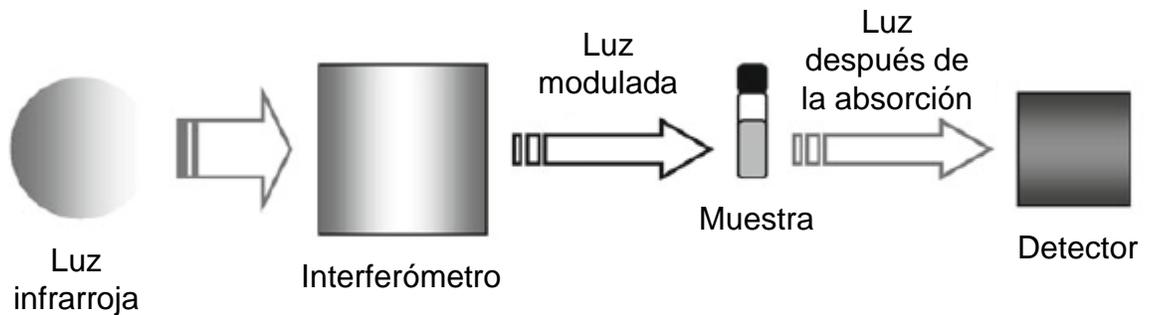
El espectro infrarrojo se extiende desde 100 a 12 500  $\text{cm}^{-1}$ , pero desde un punto de vista funcional se divide en 3 zonas: IR lejano (400-100  $\text{cm}^{-1}$  o 25-100  $\mu\text{m}$ ), donde se producen las absorciones debidas a cambios rotacionales; el IR medio (4000-400  $\text{cm}^{-1}$  o 2500 nm-25  $\mu\text{m}$ ), donde tienen lugar las vibraciones fundamentales (es decir, corresponde a la transición desde el estado vibracional estable al primer estado vibracional excitado en el estado electrónico); y el IR cercano (12500-4000  $\text{cm}^{-1}$  o 800-2500 nm) donde se producen absorciones debidas a sobretonos (correspondientes a la transición desde el estado vibracional estable a el segundo o el tercero estado vibracional excitado), o bien a combinaciones de las bandas fundamentales (Sun, 2009; Macho, 2002, Baeten & Dardenne, 2002).

La espectroscopia infrarroja media (MID) es una región muy robusta, reproducible y tiene mucho que ofrecer al analista, ya que muy pequeñas diferencias en la composición de las muestras pueden ser medidas fielmente (Sun, 2009). Los enlaces que caracterizan los grupos funcionales de una molécula tienen frecuencias específicas, y conocidas en la mayoría de los casos, a las cuales absorben, por lo que se puede obtener un espectro de absorción característico, ya que no existen dos compuestos que absorban exactamente de la misma forma (Arvanitoyannis *et al.*, 2005). Por consiguiente, la absorción o la falta de absorción en la región infrarroja media se puede usar para identificar los tipos de grupos funcionales presentes en una molécula (Hernández-Martínez, 2010a), y la comparación de la radiación infrarroja antes y después de interactuar con la muestra, da la información cuantitativa o cualitativa de dicha muestra (Kramer *et al.*, 2013).

### **2.7.3 Espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada**

El instrumento utilizado para obtener los espectros de absorción es el espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier. Éste utiliza un

interferómetro de Michelson de barrido para obtener una señal en el detector que es muestreada a intervalos precisos, controlados mediante una señal de referencia incidente en el detector que se produce por la modulación de un rayo láser helio-neón (Figura 2.8). La señal obtenida como intensidad de absorción de la muestra con respecto al tiempo (interferograma) es transformada en un gráfico de intensidad de la luz absorbida con respecto a la frecuencia (espectro), para esto se utiliza la transformada de Fourier, que es un procedimiento matemático complejo que implica integrar el interferograma entre los límites de cero y la diferencia de la trayectoria máxima (Sun, 2009).

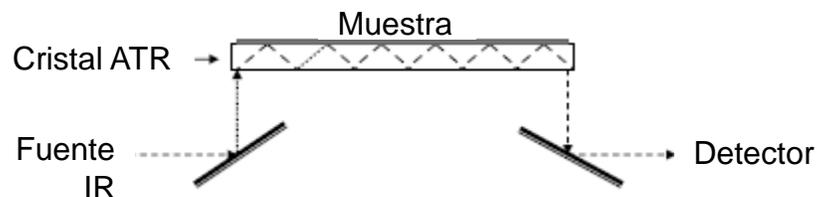


**Figura 2.8.** Diagrama esquemático de la medición de luz infrarroja en el espectrofotómetro.

El espectrofotómetro tiene una celda llamada ATR. Este es un cristal donde se coloca la muestra, los cristales ATR están constituidos por seleniuro de zinc (ZnSe), germanio (Ge), silicio (Si) o diamante, pues son materiales de un alto índice de refracción, inertes, robustos, de fácil limpieza y resistentes a la abrasión y la corrosión (incluyendo la disolución). En el anexo 1 se muestra un cuadro comparativo de estos materiales utilizados en cristales ATR.

Cuando un haz de infrarrojo viaja de un medio de índice de refracción muy alto (ZnSe) a un medio de índice de refracción bajo (muestra), una cierta cantidad de la luz es reflejada de nuevo en el medio de bajo índice de refracción; en un ángulo de incidencia particular, casi la totalidad de las ondas de luz se refleja de vuelta, este fenómeno se llama reflexión interna total (Hernández-Martínez, 2010a).

Dependiendo de la geometría y la longitud del cristal, la luz infrarroja va a someterse a múltiples reflexiones antes de emerger desde el cristal; así, el ATR puede ser de múltiples rebotes o de un solo rebote (en función del número de reflexiones del haz dentro del cristal ATR). En cada reflexión se establece una onda evanescente que decae exponencialmente en la muestra en contacto con el cristal. Si la muestra está absorbiendo, entonces habrá una transferencia de energía desde el interior del cristal a ésta y el haz emergente será atenuado (Figura 2.9). La información espectral surge de la interacción entre la muestra y la onda evanescente producida en el ATR (García-González *et al.*, 2013).



**Figura 2.9.** Esquema del principio de funcionamiento del cristal ATR.

Los métodos basados en el principio de ATR requieren una mínima cantidad de muestra; se pueden analizar muestras opacas, líquidas, pastas o polvos, la única condición es que la muestra debe estar en contacto íntimo con el cristal del ATR; la penetración en cualquier reflexión es de unas pocas micras (0.1 - 5), de manera que las muestras no necesitan tener el mismo espesor; y las trayectorias ópticas son muy reproducibles de una muestra a otra (García-González *et al.*, 2013).

## **2.8 Quimiometría**

La información química contenida en los espectros MID-FTIR-ATR reside en las posiciones de las bandas, intensidades y formas. Considerando que las posiciones de la banda dan información acerca de la estructura molecular de los compuestos químicos en una mezcla, las intensidades de las bandas están relacionadas con la concentración de estos compuestos y se describen por la ley de Beer-Lambert. La forma más fácil para determinar el contenido de un

compuesto químico es medir el cambio en la intensidad de una banda bien resuelto que ha sido atribuido a este compuesto. Esto es posible para un sistema de un componente puro, pero los alimentos contienen numerosos componentes que dan lugar a espectros complejos con bandas superpuestas. El enfoque más exitoso para la extracción de información cuantitativa o cualitativa de tales espectros es utilizar quimiometría (Karouri *et al.*, 2010).

Se conoce como quimiometría a la aplicación de conocimientos matemáticos, especialmente estadísticos, a procesos químicos, para extraer de los datos experimentales (mediciones espectrales) la mayor cantidad posible de información y extender el conocimiento del sistema químico para el cálculo de concentraciones y otras propiedades (Miller & Miller, 2002). En pocas palabras, la quimiometría consiste en la extracción de información relevante de datos químicos a través de herramientas matemáticas y estadísticas.

La extracción de información no es un proceso sencillo, ya que el desarrollo de la instrumentación analítica ha permitido obtener volúmenes de datos (variables) cada vez mayores. Por ejemplo, las técnicas espectroscópicas presentan una serie de ventajas, pero para realizar el análisis de datos, sus señales analíticas (espectros) comprenden un número elevado de variables (medidas de absorbancia en varios centenares de longitudes de onda) para cada muestra, ya que hay contribuciones de varios analitos presentes en la matriz de la muestra, por lo cual es difícil encontrar una dependencia exclusiva entre los espectros y las concentraciones del analito en estudio (Sun, 2009). Las metodologías univariantes, como se comentó anteriormente, son incapaces de proporcionar soluciones óptimas, ya que sólo ilustran una relación directa entre la señal medida y una variable a la vez; además de requerir que las señales analíticas dependan exclusivamente de la concentración del analito en estudio (medida instrumental selectiva). Esto junto con el hecho de la necesidad de procesar muchas muestras a la vez, hace importante el uso del análisis estadístico multivariante.

El análisis multivariante se utiliza para analizar las diferencias en los espectros (u otro tipo de respuestas instrumentales) y elegir los números de onda (regiones) más convenientes para la determinación múltiple y simultánea de diferentes parámetros en análisis cualitativos y cuantitativos, de entre el gran conjunto de variables de un espectro. Con esto se puede cuantificar sin los problemas derivados de la presencia de interferencias o efectos de la matriz, y aún con la presencia de muestras atípicas que comúnmente se presentan.

En la quimiometría, hay tres categorías básicas de análisis (Trygg *et al.*, 2006):

1. Análisis exploratorio. Esto da una visión general de todos los datos con el fin de detectar tendencias, patrones o conglomerados.
2. Análisis de clasificación y análisis discriminante. Clasifica las muestras en categorías o clases.
3. Análisis de regresión o calibración. Se utiliza cuando se busca una relación cuantitativa entre dos bloques de datos.

En el presente trabajo se utilizó el análisis exploratorio y la calibración multivariante, las cuales se describen a continuación.

### **2.8.1 Análisis de componentes principales**

El análisis de componentes principales (PCA) es el “caballo de batalla” en la quimiometría. Es un método de proyección multivariante diseñado para extraer y visualizar la variación sistemática de una matriz de datos analíticos. Los datos son reducidos a un número pequeño de nuevas variables ortogonales<sup>11</sup> llamadas componentes principales (Karouri *et al.*, 2010).

Los dos primeros componentes principales definen un plano, una ventana en el espacio K-dimensional. Al proyectar cada uno de los puntos simples (en el

---

<sup>11</sup> Variables no correlacionadas

espacio de  $K$  dimensiones) en este bidimensional sub-espacio, es posible visualizar todas las muestras. Las coordenadas de cada una de estas muestras proyectadas en este plano se llaman las puntuaciones  $\mathbf{T}$  (“scores”), son promedios ponderados de todas las variables  $\mathbf{X}$  (muestras). La visualización de estas puntuaciones  $\mathbf{T}$  se llama gráfica de puntuaciones (“score plot”). Ésta gráfica da una visión general de todas las muestras de  $\mathbf{X}$  y cómo se relacionan entre sí. Puede descubrir las agrupaciones de muestras (grupos), las tendencias y los valores atípicos. También es posible entender qué variables son las responsables de este patrón, para ello existe una gráfica relacionada con las variables medidas (parámetros). Esta gráfica se conoce como gráfica de cargas (“loading plot”) pues indica la influencia (o peso) de las variables  $X$  (parámetros químicos) en el modelo. Una característica importante es que las direcciones de la gráfica de puntuaciones corresponden a las direcciones de la gráfica de cargas (Trygg *et al.*, 2006).

## 2.8.2 Calibración multivariante

El principal problema analítico con datos espectroscópicos es extraer la información de una manera tal que se puedan utilizar en el análisis cuantitativo. Los espectros infrarrojos son una fuente rica de datos multivariados (más de 700 puntos de datos) en los que cada frecuencia representa una variable (García-González *et al.*, 2013). Además, utilizando datos espectroscópicos, el procedimiento de calibración es más complicado, ya que las señales se superponen e interfieren entre sí, pues corresponden a las señales de múltiples componentes. Es decir, las características en el espectro se deben a las moléculas de interés, así como la matriz (todos los compuestos que no son de interés). Cuando las señales interfieren entre sí, se recurre al modelado de calibración multivariante (Kramer *et al.*, 2013).

La calibración significa tener una fórmula (lineal o no lineal) que establezca una relación entre la variación de los datos espectrales (variable independiente) y los datos de referencia química (variable dependiente). La calibración es un proceso de regresión con un pretratamiento estricto de los datos y un análisis

riguroso de los resultados (García-González *et al.*, 2013). Su objetivo es obtener un modelo que a futuro permita predecir con precisión los valores de concentración de muestras desconocidas a partir de las mediciones analíticas (espectros infrarrojos).

El proceso de obtener un modelo robusto involucra los siguientes pasos (Sun 2009):

1. Selección de las muestras y obtención de sus valores analíticos.
2. Registro de la señal analítica (obtención de espectros).
3. Pretratamiento de datos.
4. Establecimiento y optimización del modelo multivariante.
5. Validación del modelo de calibración.
6. Predicción de muestras desconocidas.

### **2.8.2.1 Selección de las muestras**

Se requieren por lo menos de 20-30 muestras para construir un modelo preliminar, pero entre mayor número de muestras se tengan, el modelo es más robusto<sup>12</sup>. Las muestras deben abarcan uniformemente todas las posibles fuentes de variaciones físicas y químicas a ser subsecuentemente predichas. A estas muestras se les determina las concentraciones de los componentes de interés (valores de referencia o reales) mediante métodos de referencia adecuados. Los modelos a desarrollar son altamente dependiente de la calidad de los datos de referencia, por lo que estos debe proporcionar valores exactos y precisos si se quiere que el modelo multivariante muestre exactitud y precisión (Kramer *et al.*, 2013; Sun, 2009).

Generalmente, las muestras son divididas en dos subconjuntos, uno es el conjunto de calibración y es usado para construir el modelo y el otro es el conjunto

---

<sup>12</sup> La robustez de un modelo de predicción se refiere a que produce buenas estimaciones ante posibles desviaciones de los supuestos del modelo (características de las muestras).

de validación y es empleado para estudiar la precisión y confiabilidad del modelo. El modelo sólo operará con precisión si tanto las muestras de calibración y las de predicción pertenecen a la misma población.

### **2.8.2.2 Registro de la señal analítica**

La señal analítica de todas las muestras se debe obtener con el mismo instrumento y en las mismas condiciones que posteriormente serán utilizadas para el análisis de rutina, esto garantiza una constante en las fuentes de variabilidad instrumental en todos los espectros.

### **2.8.2.3 Pretratamiento de datos**

El pretratamiento de la señal se utiliza para incrementar la exactitud y precisión de los resultados. Consiste en manipulaciones matemáticas que se aplican antes de cualquier otro tipo de análisis y tratan de anular o, al menos reducir, fuentes de variabilidad en la señal, ya sea de carácter aleatorio (como el ruido) o de carácter sistemático (variaciones en la línea base debidos a cambios físicos o químicos en las muestras), las cuales no están relacionadas con el analito o la propiedad de interés (Macho, 2002) y generan, por lo tanto, una no-linealidad entre éstas (Sun, 2009). Algunos de los tratamientos matemáticos son los siguientes:

#### *a) Suavizado espectral (“smooth”)*

Este pretratamiento permite mejorar la calidad espectral (por ejemplo, relación señal a ruido). Es un proceso de filtrado, se realiza para eliminar el ruido de onda de alta frecuencia (incluso ruido de baja frecuencia) que acompaña a la señal analítica y que no está relacionada con el analito o la propiedad de interés (Macho, 2002).

Varios algoritmos están disponibles para realizar el suavizado, un procedimiento común es el ajuste polinómico de Savitzki-Golay, éste es el método más comúnmente usado para disminuir el ruido espectral (Beebe *et al.*, 1998). El

suavizado consiste en ajustar el espectro, dentro de un intervalo de número de onda, al aplicar un polinomio utilizando el método de mínimos cuadrados, para remplazar dos puntos vecinos (números de onda) por un punto intermedio. Los parámetros son el grado del polinomio y el número de puntos para hacer el ajuste (García-González *et al.*, 2013).

#### *b) Derivadas*

Las derivadas permiten una compensación por los problemas asociados con la superposición de picos y variaciones de línea de base. Los analistas utilizan generalmente la primera y la segunda derivadas. Este tratamiento matemático calcula la tangente en cada punto de los datos espectrales originales. Cada punto de inflexión del espectro corresponde a un mínimo relativo o máximo de la primera derivada del espectro, mientras que todos los máximos y mínimos en el espectro original son cero en el espectro con primera derivada (Figura 2.10).

La segunda derivada es ventajosa para la resolución de los picos que se solapan. Cada mínimo del espectro con segunda derivada corresponde a un máximo del espectro original (Williams, 2001) (Figura 2.10). Se pueden aplicar derivadas de orden superior, pero decrece la relación señal/ruido (S/R). Presenta el inconveniente de magnificar el ruido en la señal, por lo tanto se utiliza en combinación con métodos de suavizado espectral (Macho, 2002).

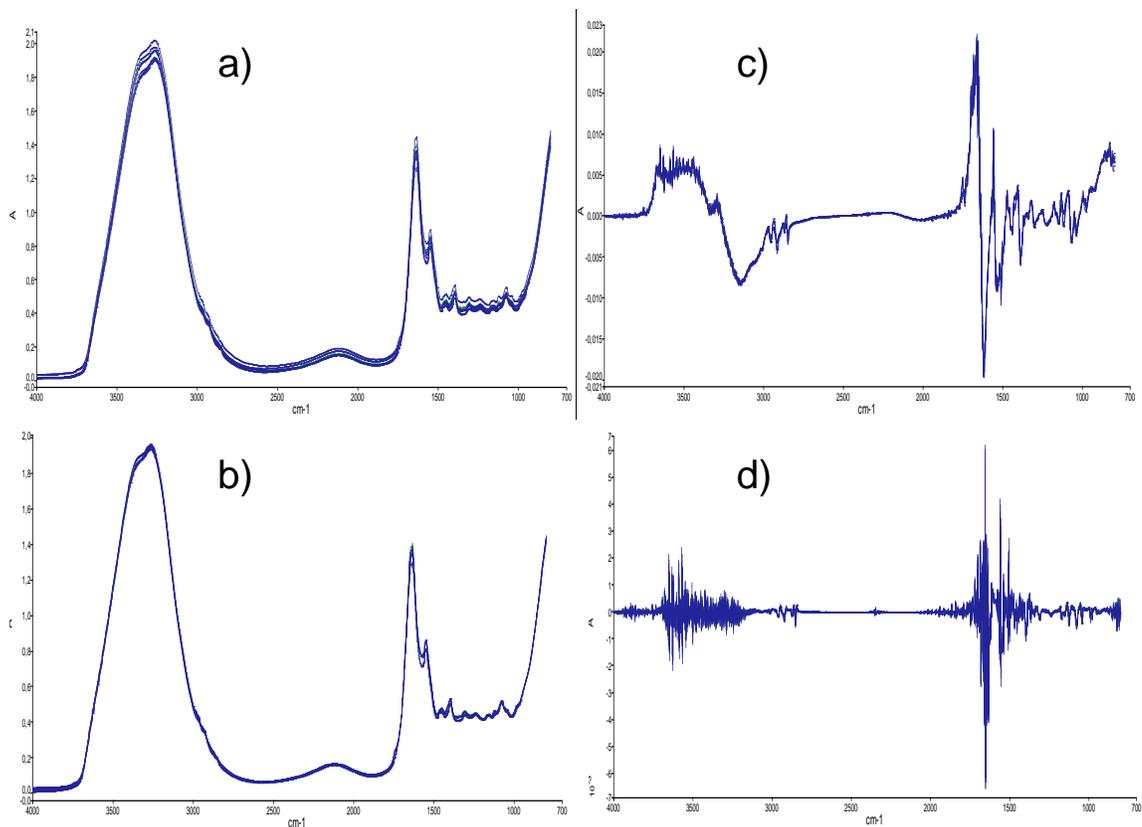
#### *c) Corrección multiplicativa de la luz dispersa y transformación variable normal estándar*

La corrección multiplicativa de la luz dispersa (multiplicative scattering correction o MSC, por sus siglas en inglés) y la transformación variable normal estándar (standard normal variate o SNV, por sus siglas en inglés) son dos tipos de normalizaciones.

La normalización significa tratar un grupo de espectros para suprimir las fuentes externas y no deseadas de la variabilidad (por ejemplo, la variación producida por el método de manipulación de la muestra). Esto ayuda a la

comprensión gráfica de los espectros y puede reducir la complejidad del tratamiento de datos subsiguiente, lo cual es necesario para desarrollar una calibración a partir de los datos espectroscópicos (García-González *et al.*, 2013).

Las normalizaciones MSC y SNV reducen los efectos aditivos y multiplicativos de la dispersión de la luz originada principalmente por diferencias en el tamaño de partícula entre las muestras (Figura 2.10). Compensan las variaciones en las longitudes de onda, tanto en la pendiente como en la línea base, producidas por la espectroscopia de reflectancia (PerkinElmer, 2000). Los tratamientos SNV y MSC muestran resultados similares, la principal diferencia entre ambos métodos consisten en que el SNV se aplica a cada espectro de manera independiente, mientras el MSC requiere el establecimiento de un espectro de referencia (Sun, 2009).



**Figura 2.10.** a) Espectros sin tratamiento. Espectros con pretratamientos b) transformación variable normal estándar- SNV, b) Primera derivada, c) Segunda derivada.

#### d) Corrección de “offset”

Es el ejemplo más simple de normalización, consiste en la resta a todos los valores espectrales un valor espectral a un número de onda (referencia); el resultado es un conjunto de espectros con valor cero en el número de onda de referencia (García-González *et al.*, 2013), ese número puede ser el de menor variabilidad en las muestras (Macho, 2002).

#### 2.8.2.4 Establecimiento y optimización del modelo quimiométrico

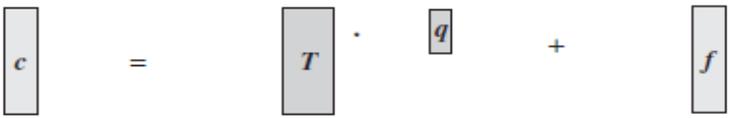
En la calibración multivariante, el número de variables de un sistema puede ser reducido de varias maneras, utilizando diferentes algoritmos: regresión múltiple lineal (multiple linear regression, MLR); regresión por componentes principales (principal components regression, PCR); la regresión de mínimos cuadrados parciales (partial least squares regression, PLS), sin y con interacción de variables (PLS-1 y PLS-2, respectivamente). El algoritmo PLS es el más utilizado para datos espectroscópicos, ya que permite trabajar con muchas variables colineales<sup>13</sup> y un pequeño conjunto de calibración, es decir, donde el número de variables (números de onda) es mayor que los casos (muestras) (García-González *et al.*, 2013).

El algoritmo PLS-1 es un método factorial, se utiliza cuando se desea establecer una relación cuantitativa entre una matriz **X** descriptora (mediciones, espectros) y una matriz de respuesta de **c** (datos analíticos, concentraciones). A menudo PLS se presenta en forma de dos ecuaciones que se describen en la Figura 2.11.

---

<sup>13</sup> Significa que los predictores del modelo están relacionados constituyendo una combinación lineal y la influencia de cada uno de ellos en el criterio no puede distinguirse al quedar solapados unos con otros, es decir individualmente no son significativos, pero sí de manera conjunta.

$$X = TP + E \quad \dots(1)$$


$$c = Tq + f \quad \dots(2)$$


**Figura 2.11.** Principio del algoritmo PLS-1.

PLS-1 se basan en la extracción de información de la matriz  $X$  (ecuación 1 Figura 2.11) para obtener un nuevo conjunto de pocas variables latentes lineales y ortogonales<sup>14</sup> llamadas factores ( $q$ ). Estas nuevas variables son usadas para la regresión con una variable dependiente  $c$  (ecuación 2 Figura 2.11). La primera ecuación se parece al principio de PCA, pero la matriz de puntuaciones “scores” ( $T$ ) también modela las concentraciones, pues es común para las dos ecuaciones. El vector  $q$  tiene analogía con el vector de cargas “loadings” ( $P$ ).  $E$  es una matriz de error para  $X$  y  $f$  es un vector de error para  $c$ . Las puntuaciones “scores”  $T$  son ortogonales, pero las cargas “loadings”  $P$  no lo son ni tampoco están normalizadas. Los puntajes y las cargas dependen tanto de las mediciones experimentales (espectros) y de las concentraciones. En PCA estos datos sólo dependen de los espectros o las concentraciones (Brereton, 2007). La calidad de los modelos puede ser determinada por el tamaño de los errores, normalmente se calcula la suma de cuadrados de  $f$ . El número de factores  $q$  significativos de PLS-1 puede estimarse según el tamaño de estos errores, a menudo utilizando validación cruzada (ver sección 6.7.4).

El producto de  $T^*P$  no proporciona la mejor ajuste de estimación de  $X$ , por lo que se debe tener un proceso iterativo hasta encontrar mejoras en el modelado de  $c$ , es decir que se reduzca el error. El primer factor PLS-1 es calculado como

<sup>14</sup> No colineales, no correlacionadas.

aquel que tenga la máxima covarianza<sup>15</sup> entre las puntuaciones “scores”  $\mathbf{T}$  y la propiedad modelada  $\mathbf{c}$ . Luego, la información (varianza) de ese factor es removida de la matriz de datos  $\mathbf{X}$ , esto es crear una proyección de el espacio de  $\mathbf{X}$  en un hiper-plano que es ortogonal a la dirección del factor  $\mathbf{q}$ . La matriz residual  $\mathbf{X}_R$  resultante tiene el mismo número de variables que la matriz original  $\mathbf{X}$ , pero la dimensionalidad se ha reducido. El siguiente factor se obtiene de  $\mathbf{X}_R$  buscando la máxima covarianza entre los “scores”  $\mathbf{T}$  y  $\mathbf{c}$ . El procedimiento continua hasta que ya no se observan mejoras en el modelado de  $\mathbf{c}$  (Varmuza & Filzmoser, 2009). De esta forma, los primeros factores o fuentes de variación en los datos, contienen información útil, mientras que los últimos representan el ruido electrónico, el cual debe ser descartado y no considerado en el modelo (Ragno *et al.*, 2004). Este proceso de obtención de factores (vectores) se realiza para cada propiedad de interés.

Es importantes resaltar que el objetivo del algoritmo PLS-1 es obtener factores que capturen la mayor varianza en  $\mathbf{X}$  y  $\mathbf{c}$ , y maximizar la correlación entre estas matrices; también que el número de factores PLS-1 determina la complejidad del modelo y estos pueden ser optimizados para un alto desempeño de predicción (Varmuza & Filzmoser, 2009). La optimización consiste, justamente, en encontrar las mejores condiciones para que el algoritmo sea exitoso en la predicción de los parámetros de interés.

#### **2.8.2.5 Validación del modelo**

Conocer la exactitud con las que se predicen las muestras determina la idoneidad del modelo. Los modelos de calibración comúnmente se validan por medio de muestras distintas a las utilizadas en la calibración (llamadas conjunto de validación); la validación comprueba que no existe error sistemático entre las predicciones realizadas por el modelo y los valores del método de referencia respecto a las muestras del conjunto de validación (Porcel, 2001). Se denomina

---

<sup>15</sup> El criterio de covarianza implica el máximo coeficiente de correlación y la máxima varianza.

validación externa o independiente si se predicen muestras distintas a las utilizadas en el conjunto de calibración, y se denomina validación cruzada, cuando se utilizan las mismas muestras del conjunto de calibración, pero no al mismo tiempo.

#### **2.8.2.6 Predicción de muestras desconocidas**

Una vez que el modelo ha sido aceptado, puede ser utilizado para el análisis de nuevas muestras a las cuales se les ha registrado la señal analítica previamente (Porcel, 2001).

### **2.9 Aplicaciones de la espectroscopia MID-FTIR-ATR acoplada a quimiometría**

La espectroscopia MID-FTIR-ATR se ha aplicado con éxito para predecir las propiedades de: carne (Alexandrakis *et al.*, 2012; Papadopoulou *et al.*, 2011; Meza-Márquez *et al.*, 2010), leche (Ferrand *et al.*, 2011), grasas y aceites (Meng *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2012; Rohman & Che Man, 2011; Hernández-Martínez *et al.*, 2010b), frutas y verduras (Castañeda-Pérez, *et al.*, 2013; Sinelli *et al.*, 2008), vino (Soriano *et al.*, 2007), masa de maíz y tortilla (Piña- Barrera *et al.*, 2013); miel (Rios- Corripio *et al.*, 2012; Gallardo-Velazquez *et al.*, 2009). Así como para predecir el contenido de ácidos grasos en diversas matrices: extracto lipídico de alimento para aves (Mahesar *et al.*, 2011), grasa de carne de res (Hu *et al.*, 2010), aceites vegetales (Sherazi *et al.*, 2009) y grasa de cerdo (Olsen *et al.*, 2008), entre otros.

En la literatura existen varias referencias sobre el uso de la espectroscopia de espectroscopia FT-NIR para predecir diversos parámetros del pescado como: la grasa (Folkestad *et al.*, 2008; Shimamoto *et al.*, 2004), la composición química (Khodabux *et al.*, 2007; Uddin *et al.*, 2006; Xiccato *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2003), e índices de deterioro (Cozzolino *et al.*, 2002) o discriminar tipos de harina de pescado (Cozzolino *et al.*, 2005). Sin embargo, la cuantificación de los ácidos grasos en filetes de pescado por espectroscopia MID-FTIR-ATR combinada con

quimiometría no se ha informado hasta el momento, sólo para la predicción en aceite de pescado (Wu *et al.*, 2014; Vongsvivut *et al.*, 2012). Además, hay escasa literatura del uso de la espectroscopia MID-FTIR-ATR para el análisis de la frescura del pescado (Karoui *et al.*, 2007; Pink *et al.*, 1998) o la composición de proteínas y contenido de sal (Galvis-Sánchez *et al.*, 2011, Elvingson & Sjaunja, 1992), a pesar de que el infrarrojo medio es también una región usada para el análisis cuantitativo y cualitativo de muchos productos.

# JUSTIFICACIÓN

“Everyone is trying to accomplish something big,  
not realizing that life is made up of little things”

Frank A. Clark

(1911-1991) Dibujante y escritor estadounidense.

### 3. JUSTIFICACIÓN

El pescado es una fuente importante de proteínas y ácidos grasos omega-3, pero estos componentes sufren cambios durante el almacenamiento y procesamiento, lo que se traduce en deterioro de la calidad sensorial, pérdida de valor nutricional y disminución de la vida de anaquel. Así, la composición química y la frescura del pescado son factores importantes que determinan su calidad y destino y son de interés en industrias alimentarias y de obtención de subproductos del pescado.

En los pescados enteros, los ojos, las branquias, la piel y las escamas, pueden ser examinados para determinar su frescura. Sin embargo, cuando el pescado ha sido fileteado, la determinación de su frescura no es tan simple.

Los métodos químicos para cuantificar la composición química (por ejemplo, método de Kjeldahl y el método de Soxhlet), los métodos para evaluar la frescura del pescado (por ejemplo, nitrógeno volátil total), o el método de cromatografía de gases para la determinación del contenido de ácidos grasos, son técnicas que requieren grandes cantidades de disolventes y reactivos, son costosas, laboriosas, generan desechos tóxicos al ambiente y a quienes lo manipulan, y se tiene la necesidad de acondicionar y limpiar gran cantidad de material de laboratorio, pero sobre todo, requieren de un gran tiempo de análisis, como ocurre con la cromatografía de gases que involucra la derivatización de ésteres de metilo de ácidos grasos. Para las industrias, esto representa dificultades para llevar a cabo el control de la calidad del pescado de manera rápida, sobre todo en las industrias de los países en desarrollo, pues los métodos requieren de varios equipos especializados y personal entrenado.

La demanda de altos niveles de calidad en el pescado requiere de herramientas analíticas rápidas y confiables para el control de calidad durante su almacenamiento y procesamiento. Actualmente la espectroscopia infrarroja media por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (MID-FTIR-ATR) acoplada al análisis multivariante (quimiometría) ha sido utilizada de forma exitosa

para analizar la composición química de varios productos y sustituir los métodos tradicionales de análisis, debido a que es una técnica rápida, confiable, no requiere el uso de disolventes y es más rentable que la cromatografía de gases. Sin embargo, la cuantificación de la composición química, índices de deterioro, y ácidos grasos en filetes de pescado mediante espectroscopia MID-FTIR-ATR no se ha informado hasta ahora.

Con base en lo anterior, el objetivo de la presente tesis fue desarrollar modelos de predicción multivariante (modelos quimiométricos) basados en espectroscopia MID-FTIR-ATR para la predicción de parámetros químicos y nutricionales en filetes refrigerados de atún aleta azul, jurel y sierra.

Los parámetros modelados de importancia industrial y nutricional fueron: la composición química (humedad, proteína, grasa y cenizas), pH, cuatro índices de deterioro (nitrógeno volátil total, trimetilamina, índice de peróxido e índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico), así como la predicción de 20 ácidos grasos individuales, grupos de ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (MUFA), poliinsaturados (PUFA), ácido eicosapentaenóico (EPA) + ácido docosahexaenóico (DHA), y 5 parámetros nutricionales de la calidad de los lípidos del pescado.

Estos métodos analíticos representan una herramienta muy útil en la toma de decisiones de la industria de alimentos.

# OBJETIVOS

"Modern science should indeed arouse in all of us a humility before the immensity of the unexplored and a tolerance for crazy hypotheses."

Martin Gardner  
(1914-2010) Divulgador científico y matemático

## **4. OBJETIVOS**

### ***4.1 Objetivo general***

Obtener modelos multivariantes, denominados modelos quimiométricos, basados en la espectroscopia infrarroja media por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (MID-FTIR-ATR) para la predicción de la composición química, contenido de ácidos grasos, parámetros nutricionales e índices de deterioro de tres especies de pescado: atún aleta azul, jurel y sierra.

Con el fin de lograr este objetivo general, se plantearon los siguientes objetivos particulares:

### ***4.2 Objetivos particulares***

- Muestrear filetes de atún de aleta azul, jurel y sierra durante 3 épocas del año: verano, otoño e invierno.
- Caracterizar los filetes de atún aleta azul, jurel y sierra, frescos y refrigerados durante 13 días de almacenamiento, en términos de su composición química (humedad, proteína, grasa y cenizas), y su composición de ácidos grasos, incluyendo ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, omega-3, así como 5 índices nutricionales de la calidad de los lípidos del pescado.
- Analizar el deterioro de los filetes de atún aleta azul, jurel y sierra durante 13 días de almacenamiento en condiciones de refrigeración (0 °- 0.5 °C), a través del pH y 4 índices de deterioro: nitrógeno volátil total, trimetilamina, índice de peróxido, e índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico.
- Caracterizar espectrofotométricamente con espectroscopia MID-FTIR-ATR los filetes de atún aleta azul, jurel y sierra, frescos y refrigerados durante 13 días de almacenamiento.

- Correlacionar los datos espectrales y analíticos de los filetes de atún aleta azul, jurel y sierra utilizando el algoritmo de mínimos cuadrados parciales (PLS-1) de un software de análisis multivariante, para desarrollar, optimizar y validar los modelos quimiométricos.
- Probar la capacidad predictiva de los modelos utilizando muestras externas atún aleta azul, jurel y sierra.

# MATERIALES Y MÉTODOS

“Some people feel the rain. Others just get wet”

Bob Marley

(1945-1981) Músico y compositor jamaicano.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Materias primas

Se analizaron filetes de pescado de las especies atún aleta azul (*Thunnus thynnus*), jurel (*Caranx hippos*) y sierra (*Scomberomorus maculatus*). Estos fueron adquiridos en el mercado de pescados y mariscos de “La Nueva Viga”, en la Ciudad de México, que es el mayor mercado de productos pesqueros en América. Estas especies son de gran aceptación y demanda en México, debido a su sabor, valor nutricional, o precio accesible (CONAPESCA, 2011).

Las muestras fueron obtenidas de pescados enteros con excelentes propiedades de calidad física: ojos claros y no hundidos, agallas de color rojo y sin viscosidades, carne y piel firmes. El pescado se fileteó o cortó en medallones (en el caso del atún) en el lugar de compra e inmediatamente fue transportado al laboratorio.

### 5.2 Reactivos

- Mezcla de catalizadores para determinación de proteína (sulfato de cobre pentahidratado-sulfato de potasio, 1:5).
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Hidróxido de sodio 40% (w/v).
- Ácido bórico 4 % (w/v).
- Ácido clorhídrico 0.1 N (Hycel).
- Reactivo de Wesslow. Solución alcohólica de rojo de metilo 0.2% y azul de metileno 0.2% 2:1(v/v).
- Mezcla cloroformo-metanol 2:1 (v/v).
- Solución de NaCl al 0.58%.
- Solución metanólica de NaOH 0.5 N.
- Trifluoruro de boro en metanol al 14% (Sigma-Aldrich).
- Solución de NaCl saturada (37 %).
- Sulfato de sodio anhidro.

- Heptano grado HPLC.
- Soluciones patrón: Una mezcla de 20 ésteres de metilo de origen marino y de composición conocida (Restek 35066).
- Nitrógeno 4.8, con 99.999% pureza, O<sub>2</sub> < 1 ppm, H<sub>2</sub>O < 3 ppm, hidrocarburos < 0.5 ppm.
- Aire extra seco, O<sub>2</sub> 19.5% - 23.5%, H<sub>2</sub>O < 10 ppm.
- Hidrógeno cromatográfico con 99,998% pureza, O<sub>2</sub> < 5ppm, H<sub>2</sub>O < 5 ppm, hidrocarburos < 1 ppm.
- Solución acuosa de ácido tricloroacético al 7.5% (w/v).
- Hidróxido de sodio 10% (w/v).
- Formaldehído al 35 % (v/v).
- Mezcla cloroformo-metanol 7:3 (v/v).
- Solución de tiocianato de amonio al 30% (w/v).
- Solución de cloruro de fierro (II) preparada por precipitación.
- Cloruro de bario.
- Sulfato de fierro heptahidratado.
- Ácido clorhídrico concentrado.
- Solución acuosa de tiocianato de amonio al 30 % (w/v).
- Polvo de fierro elemental.
- Peróxido de hidrógeno al 30 %.
- Solución 0.02 M de ácido 2-tiobarbitúrico en ácido acético al 90%.
- 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP).

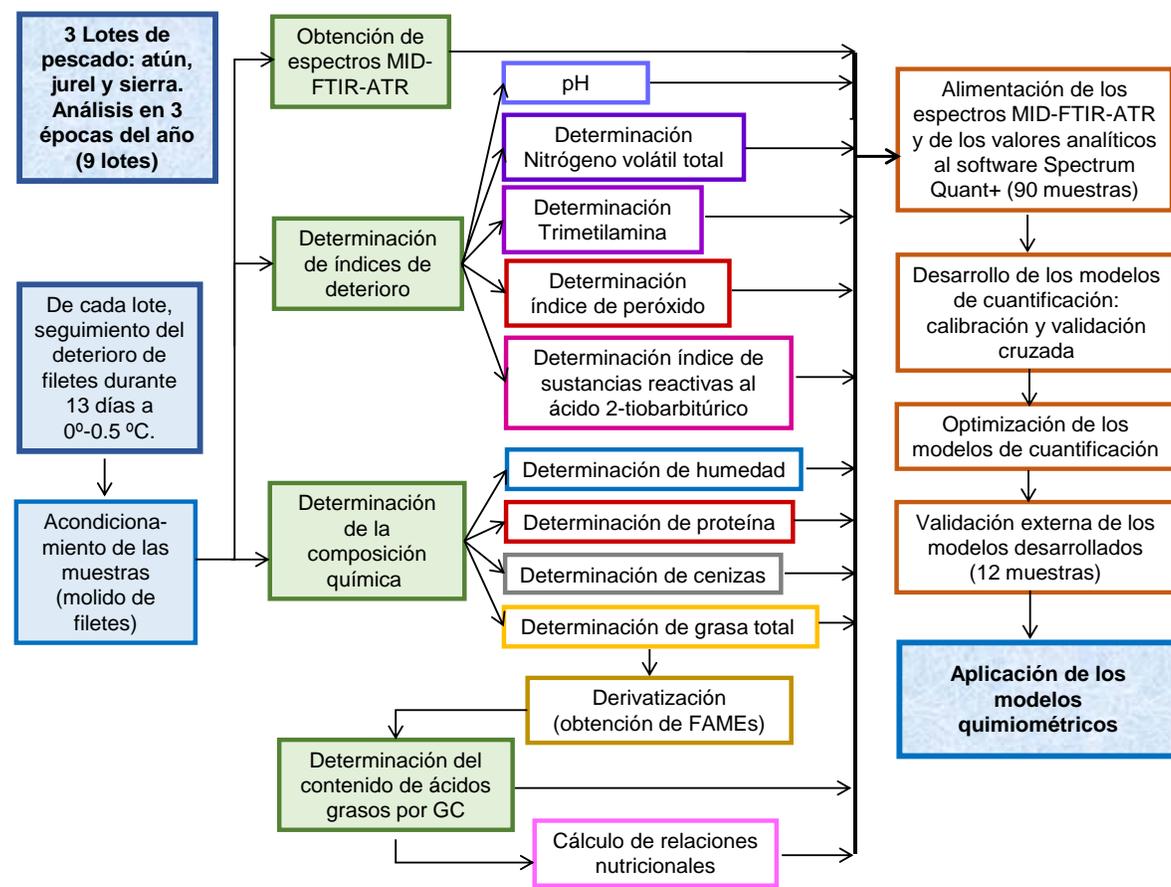
### **5.3 Material y equipo de laboratorio**

- ❖ Espectrofotómetro MID-FTIR-ATR marca PerkinElmer® modelo GX (Norwalk, Connecticut, USA).
- ❖ Accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) con cristal de seleniuro de zinc (ZnSe). La geometría del cristal es un paralelogramo de 45°, con caras en ángulo de espejo y con diez reflexiones internas nominales (Pike Technologies®, Wisconsin, USA).

- ❖ Cromatógrafo de gases Clarus 500 marca PerkinElmer® (Shelton, Connecticut, USA), con detector de ionización de flama (FID) y sistema de inyección manual.
- ❖ Columna capilar Rtx® 2330 marca Restek (Bellefonte, California, USA) con fase estacionaria de 90% biscianopropil y 10% fenilcianopropil polisiloxano, de 105 m x 0.25 mm ID, 0.2 mm film.
- ❖ Espectrofotómetro UV-visible modelo 6305 marca JENWAY® (Stone, Staffordshire, UK).
- ❖ Equipo de cómputo y software:
  - ❖ Software estadístico de análisis multivariante Spectrum Quant+ versión 4.51.02 copyright 2000 marca PerkinElmer, Inc. (Beaconsfield, Bucks, UK).
  - ❖ Software para el manejo de datos Spectrum versión 5.3.1 copyright 2005 marca PerkinElmer, Inc. (Beaconsfield, Bucks, UK).
  - ❖ Software estadístico Minitab, versión 16.1.0. (State College, Pennsylvania, USA).
  - ❖ Software de cromatografía TotalChrom™ versión 6.3 copyright 2004 marca PerkinElmer, Inc. (Shelton, Connecticut, USA).
- ❖ Aparato de semi-micro de destilación Kjeldahl.
- ❖ Aparato de semi-micro digestión Kjeldahl.
- ❖ Refrigerador 1.72 ft<sup>3</sup> (Marca Sanyo, modelo SR-1730 L).
- ❖ Balanza analítica (Marca Mettler, modelo H31).
- ❖ Balanza analítica (Marca Scientech, modelo SA 210D).
- ❖ Balanza digital (Marca Acculab, modelo VI-4800).
- ❖ Mufla (Marca Thermolyne, modelo 1400).
- ❖ Estufa (Marca Riossa, modelo Uniterm serie 1000/A).
- ❖ Centrifuga (Sol-bat modelo 2284).
- ❖ Parrilla de calentamiento (Marca Toastmaster, modelo 6401).
- ❖ Medidor de pH (Marca Conductronic S.A., modelo Conductronic pH 10).
- ❖ Desecador.
- ❖ Material de vidrio de uso común en el laboratorio.

## 5.4 Desarrollo experimental

La Figura 5.1 muestra el desarrollo experimental, así como el tiempo necesario para efectuar los análisis químicos.



<b>Determinación</b>	<b>Tiempo de análisis de una muestra por triplicado (horas)</b>
<i>Humedad</i>	7
<i>Cenizas</i>	8
<i>Grasa</i>	4
<i>Proteínas</i>	7
<i>Ácidos grasos por CG</i>	4.5 (+ 4 para extracción de grasa)
<i>Nitrógeno volátil total</i>	3
<i>Trimetilamina</i>	3
<i>Índice de peróxido</i>	1.5
<i>Índice de TBARS</i>	2.5
<b>TOTAL</b>	<b>40.5</b>

**Figura 5.1.** Desarrollo experimental y tiempos de análisis.

### **5.5 Muestreo y manejo de la muestra**

Se analizó un lote de cada especie en el verano (de junio a agosto de 2011), el otoño (de octubre a diciembre de 2011) y el invierno (febrero y marzo de 2013) para determinar la variabilidad química necesaria para desarrollar modelos quimiométricos robustos.

Los filetes, que pesaban aproximadamente 150 g, se almacenaron en bolsas Ziploc® y se mantuvieron en condiciones de refrigeración en 0°- 0.5 °C durante 13 días en un refrigerador (Sanyo 1.72 ft<sup>3</sup>). Filetes de cada lote se caracterizaron químicamente y espectrofotométricamente por triplicado sólo en 10 de los 13 días (día de almacenamiento 0, 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 12 y 13). Por lo tanto, durante todo el estudio se analizaron individualmente 30 muestras de cada especie. Además, otros 4 filetes de cada especie se analizaron aleatoriamente como muestras de validación externa. Cada filete se molió en un procesador de alimentos equipado con una hoja de acero inoxidable (Taurus, modelo SR-150), y el espectro MID-FTIR-ATR de cada muestra se registró individualmente para determinar los índices de composición química y de deterioro como se explica en la siguiente sección.

Es importante comentar que el estudio de deterioro del pescado se realizó en condiciones de refrigeración, ya que en estas condiciones se comercializa el 70% del pescado en México (CONAPESCA, 2011). Por otro lado, el estudio se llevó a cabo durante 14 días, ya que la vida de anaquel normal y los productos refrigerados es de 7 a 15 días dependiendo de la especie (Venugopal, 2002).

### **5.6 Métodos de análisis**

Todos los análisis de composición química, contenido de ácidos grasos e índices de deterioro se llevaron a cabo por triplicado. Los datos obtenidos fueron sujetos a un análisis estadístico para calcular la desviación estándar de cada valor, para lo cual se utilizó el software Minitab® versión 16.1.0 (State College, PE, USA). Los métodos se describen a continuación:

## 5.6.1 Composición química

### 5.6.1.1 Determinación de humedad

El contenido de humedad fue determinado por el método 934.01 de la AOAC (AOAC, 2002), que consiste en:

1. Pesarse aproximadamente 2 g de pescado molido en una charola de aluminio a peso constante.
2. Colocar la muestra en una estufa a 100 °C hasta que alcance el peso constante.
3. Pasar la charola a un desecador y esperar 20 min a que se enfríe hasta temperatura ambiente.
4. Pesarse la charola y aplicar la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \left( 1 - \frac{\text{peso cte} - \text{charola}}{\text{muestra} - \text{charola}} \right) * 100 [=] \frac{\text{g agua}}{100 \text{ g pescado}}$$

Donde:

peso cte = Peso de la charola más la muestra seca a peso constante [g].

muestra = Peso de la charola más la muestra húmeda [g].

charola = Peso de la charola de aluminio vacía y a peso constante [g].

### 5.6.1.2 Determinación de cenizas

El contenido de cenizas fue determinado usando el método 967.05 de la AOAC (AOAC, 2002), que consiste en:

1. Pesarse aproximadamente 2 g de pescado molido en un crisol de porcelana a peso constante.
2. Quemar la muestra con un mechero Bunsen dentro de una campana de extracción, el calentamiento debe ser suave evitando que se incendie la muestra.

3. Calcinar la muestra en una mufla a  $\geq 550$  °C durante 6 h para garantizar que llegue a peso constante.
4. Sacar el crisol de la mufla y pasarlo a una estufa a 100 °C por 20 min.
5. Pasar el crisol a un desecador y esperar 20 min a que se enfríe hasta temperatura ambiente.
6. Pesarse el crisol y aplicar la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \left( \frac{\text{peso cte} - \text{crisol}}{\text{muestra} - \text{crisol}} \right) * 100 [=] \frac{\text{g cenizas}}{100 \text{ g pescado}}$$

Donde:

peso cte = Peso del crisol más la muestra seca a peso constante [g].

muestra = Peso del crisol más la muestra húmeda [g].

crisol = Peso del crisol vacío y a peso constante [g].

### 5.6.1.3 Determinación de proteína

El contenido de proteína fue determinado por el método de Kjeldahl de acuerdo al procedimiento de Pearson (1976):

1. Pesarse aproximadamente 1 g (o 0.2 g para el micro Kjeldahl) de pescado molido en un pedazo pequeño de plástico EgaPack®.
2. Colocar la muestra en el matraz digestor y adicionar 3 g (o 1 g) de mezcla de catalizadores y 25 mL (o 5 mL) de ácido sulfúrico concentrado.
3. Digerir la muestra hasta completar la oxidación y obtener un líquido gris (aproximadamente 4 h) y después dejar enfriar (1 h).
4. Transferir cuantitativamente el líquido obtenido en un matraz aforado de 100 mL (o de 25 mL), colocar el matraz en un baño de agua fría y aforar.
5. Tomar una alícuota de 10 mL y colocarla en el aparato de semi-micro de destilación Kjeldahl, cuya destilación es por arrastre de vapor.
6. Adicionar lentamente al aparato 6 mL de NaOH al 40% y dejar destilar.
7. Colectar 50 mL del destilado en un matraz Erlenmeyer de 100 mL que contiene 10 mL de ácido bórico al 4% y 2 gotas del indicador de Wesselow.
8. Titular el destilado con HCl 0.1 N hasta que vire de verde a morado.
9. Calcular el porcentaje de proteína con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Proteína} = \frac{\text{gasto} * 6.25 * 0.014 * N * \text{volumen} * 100}{\text{muestra} * \text{alícuota}}$$

Donde:

gasto = Gasto de HCl durante la titulación [mL].

6.25 = Factor de conversión de % de nitrógeno a % de proteína animal.

0.014 = Miliequivalentes de nitrógeno [g].

N = Normalidad del HCl (0.1 N).

volumen= Volumen al cual se aforó la mezcla de digestión (100 mL).

muestra = Gramos de pescado analizados.

alícuota = Volumen de la alícuota utiliza para el análisis (10 mL).

#### 5.6.1.4 Determinación del contenido de grasa

La extracción de grasa se llevó a cabo de acuerdo al método de Folch (Folch *et al.*, 1957), el cual se describe a continuación:

1. Homogenizar la muestra de pescado molido (25 g) durante 1 min con 250 mL de una mezcla de cloroformo-metanol 2:1 (v/v) utilizando un procesador de alimentos (Oster® modelo 2614, México). La extracción se lleva a cabo 2 veces, juntando al final los extractos.
2. Filtrar el extracto con papel filtro poro medio y coleccionar en tubos para centrifuga de 50 mL.
3. Adicionar solución salina de NaCl al 0.58% a cada tubo, para obtener la proporción de cloroformo-metanol-agua de 8:4:3, respectivamente, agitar vigorosamente el tubo por 30 s.
4. Centrifugar el sistema bifásico obtenido, en los mismos tubos para centrifuga, durante 5 min a 3500 rpm.
5. Eliminar la fase acuosa a cada tubo utilizando una pipeta Pasteur, coleccionar la fase inferior clorofórmica en un matraz redondo de 100 mL, previamente pesado.
6. Eliminar el cloroformo con un rotavapor (Büchi "R") a 43°C. Eliminar los restos de cloroformo con una corriente suave de nitrógeno.

7. Cuantificar los lípidos extraídos por diferencia de peso respecto al peso del matraz balón vacío.

Los lípidos extraídos fueron utilizados en la determinación del perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases.

### **5.6.2 Contenido de ácidos grasos por cromatografía de gases**

El contenido de ácidos grasos se determina por cromatografía de gases, pero antes de dicho análisis las muestras deben ser pretratadas en un procedimiento de derivatización.

#### **5.6.2.1 Preparación de ésteres de metilo**

La grasa pura de las muestras de pescado fue convertida por triplicado a ésteres de metilo de ácidos grasos (FAME, por sus siglas en inglés) empleando el método 2.301 de la IUPAC (IUPAC, 1992), el cual consiste en:

1. Colocar en un matraz balón de 100 mL la cantidad de 350 g de aceite de las muestras de pescado.
2. Adicionar al matraz 6 mL de solución metanólica de NaOH 0.5 N, cuerpos de ebullición y se pone a reflujar durante 5 min.
3. Adicionar 7 mL de BF<sub>3</sub> en metanol al 14% por la boca del refrigerante y continuar el reflujo otros 2 min.
4. Añadir 1.0 mL de heptano y reflujar 1 min más.
5. Enfríar el sistema de reflujo, desmontar y agregar al matraz 10 mL de solución saturada de NaCl, rotar el matraz suavemente.
6. Extraer la capa de heptano utilizando un embudo de separación, recuperarlo en un vial de vidrio con sulfato de sodio anhidro, y agitar vigorosamente.
7. Traspasar el heptano a un tubo Eppendorf y llevar el heptano a un volumen de 0.5 mL.
8. Centrifugar el tubo Eppendorf durante 5 min a 3500 rpm.

El heptano contiene los ésteres de metilo de ácidos grasos (FAME) presentes en la muestra, ésta se analizó posteriormente por cromatografía de gases.

### 5.6.2.2 Determinación de la composición de ácidos grasos por cromatografía de gases

El análisis de los FAME se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases Clarus 500 marca PerkinElmer Inc. (Shelton, CT, USA) con un detector de ionización de flama (FID). Se utilizó una columna capilar Rtx® 2330 (105 m, 0.25 mm ID, 0.2 mm df) con fase estacionaria de 90% biscianopropil y 10% fenilcianopropilpolisiloxano (Restek®, Bellefonte, USA).

Se calibró el cromatógrafo de gases de acuerdo a los siguientes parámetros (Cuadro 5.1), que están basados en el método de Hernández-Martínez et al. (2010b):

**Cuadro 5.1.** *Parámetros cromatográficos óptimos para la cromatografía de gases de ésteres de metilo de ácidos grasos de pescado.*

<b>Parámetro</b>	
Temperatura del inyector:	250 °C
Temperatura del detector FID:	250 °C
Velocidad del gas acarreador (nitrógeno):	1 mL/min
Presión del gas acarreador (nitrógeno):	276 KPa (40 psi)
Proporción de separación ("split"):	1:10

Programa de temperatura :

Temperatura (°C)	Tiempo de espera (min)	Velocidad (°C / min)
Inicial 100	10	15
1 205	0	3
2 230	0	1.3
3 240	20	

1. En dichas condiciones se inyectaron diferentes concentraciones (0.5, 2.5, 5.0, 7.5 y 10  $\mu\text{L}$ ) de una mezcla de 20 FAME de origen marino y de composición conocida (Restek 35066). Cada muestra fue analizada en triplicado para obtener curvas de calibración para cada componente.
2. Posteriormente, se inyectó 1  $\mu\text{L}$  de los ésteres de metilo de cada muestra problema dentro del cromatógrafo de gases, las muestras se analizaron por triplicado.
3. Las asignaciones para cada pico de la muestra problema se realizaron por comparación de sus tiempos de retención contra los tiempos de retención de los estándares.
4. El porcentaje de cada componente en la muestra se obtuvo al dividir el área de cada componente entre el área total de los componentes (sin considerar el disolvente) y multiplicando por 100%. Cabe mencionar que el cálculo del área la realiza el software del equipo (TotalChrom™) de manera automática.
5. La concentración de los componentes identificados, en  $\mu\text{g}$  de FAME por  $\mu\text{L}$  inyectado, se calculó interpolando el área del componente en la curva tipo correspondiente. Posteriormente, conociendo la cantidad de grasa de pescado utilizado en el análisis y el contenido total de grasa total se calcularon los gramos de cada FAME presente por 100 gramos de pescado utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ FAME}_x = \frac{\text{fame}_x * \text{volumen} * 1 \times 10^{-6} * \text{grasa} * 100}{\text{alícuota}}$$

Donde:

$\% \text{ FAME}_x$  = Éster de metilo del ácido graso “x” [g / 100 g de pescado].

$\text{fame}_x$  = Ester de metilo del ácido graso “x” [ $\mu\text{g}$  /  $\mu\text{L}$  inyectado]. Dato obtenido de la curva tipo del ácido graso “x”

volumen= Volumen de heptano en el que se disolvieron los FAME antes de la inyección al cromatógrafo (500  $\mu\text{L}$ ).

$1 \times 10^{-6}$  = Factor de conversión de microgramos a gramos.

alícuota = Peso de la alícuota de aceite de pescado derivatizado [g].

grasa =Porcentaje de grasa total de la muestra de pescado [g grasa / 100 g de pescado].

6. Finalmente se convirtieron los gramos de ésteres de metilo de ácidos grasos (FAME) en gramos de ácidos grasos utilizando factores de conversión (ver anexo 2) del método 996.06 de la AOAC (AOAC, 2002).

Los resultados de composición de ácidos grasos también fueron reportados como por ciento en área de ácidos grasos respecto del total de ácidos grasos (% en área).

El cálculo de los límites de detección (LOD) y límites de cuantificación (LOQ) de ácidos grasos se calcularon como se describe en Miller & Miller (2002) utilizando las siguientes fórmulas:

$$LOD_y = y_B + 3 * S_B \qquad LOQ_y = y_B + 10 * S_B$$

$$LOD_x = \frac{LOD_y - y_B}{pendiente} = \frac{3 * S_B}{pendiente} \qquad LOQ_x = \frac{LOQ_y - y_B}{pendiente} = \frac{10 * S_B}{pendiente}$$

$$S_B = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}}$$

Donde:

LOD<sub>y</sub> = Límite de detección en y (áreas).

LOD<sub>x</sub> = Límite de detección en x (concentraciones).

LOQ<sub>y</sub> = Límite de cuantificación en y (áreas).

LOQ<sub>x</sub> = Límite de cuantificación en x (concentraciones).

pendiente = pendiente de la ecuación de regresión lineal (curva de calibración) de cada ester de metilo de ácido graso (FAME).

y<sub>B</sub> = ordenada al origen de la ecuación de regresión lineal de cada FAME.

S<sub>B</sub>= desviaciones estándar de las regresiones lineales obtenidas para cada FAME. Estima los errores aleatorios en la dirección de y.

y<sub>i</sub> = Valor de y real.

$\hat{y}_i$  = Valor de y calculado con la ecuación de regresión lineal de cada FAME.

N = número de lecturas de y en la ecuación de regresión lineal.

## 5.7 Cálculo de índices de calidad nutricional del pescado

El pescado es apreciado por su contenido de ácidos grasos poliinsaturados omega-3. Es por ello que se calcularon cinco índices de la calidad nutricional del pescado que están en función del contenido de ácidos grasos.

El índice de la calidad de los lípidos del pescado (% FLQ, por sus siglas en inglés) fue obtenido con la fórmula sugerida por Senso *et al.* (2007). Cuanto mayor sea el valor de este índice, mayor es la calidad de la fuente de lípidos:

$$\% FLQ = \frac{(EPA + DHA)}{grasa\ total} * 100$$

Donde:

% FLQ = Índice de la calidad de los lípidos del pescado.

DHA = Ácido docosahexaenóico C22:6 [mg / 100 g pescado].

EPA = Ácido eicosapentaenóico C20:5 [mg / 100 g pescado].

Grasa total = mg de grasa total por cada 100 g de pescado.

El contenido total de ácidos grasos omega-3 por cada 100 g de pescado (Omega-3/100 g de pescado) se calculó con la siguiente fórmula:

$$Omega - 3 = (DHA + EPA + ALA + C20 : 3)$$

Donde:

Omega-3 = gramos de ácidos grasos omega-3 por cada 100 g de pescado.

DHA = Ácido docosahexaenóico C22:6 [g / 100 g pescado].

EPA = Ácido eicosapentaenóico C20:5 [g / 100 g pescado].

ALA = Ácido alfa-linolénico C18:3 [g / 100 g pescado].

C20:3 = Ácido eicosatrienóico C20:3 [g / 100 g pescado].

Los índices de aterogenicidad (IA) y trombogenicidad (IT), fueron obtenidos de acuerdo a las fórmulas de Ulbricht & Southgate (1991). En estos índices se atribuyen diferentes pesos a los ácidos grasos en función de la diferente contribución de éstos a la prevención o promoción de los fenómenos patológicos:

$$IA = \frac{[C12:0 + (4 * C14:0) + C16:0]}{MUFA + PUFA n-6 + PUFA n-3}$$

$$IT = \frac{(C14:0 + C16:0 + C18:0)}{\left[ (0.5 * MUFA) + (0.5 * PUFA n-6) + (3 * PUFA n-3) + \left( \frac{PUFA n-3}{PUFA n-6} \right) \right]}$$

Donde:

MUFA = Ácidos grasos monoinsaturados [g / 100 g pescado].

PUFA n-3 = Ácidos grasos poliinsaturados omega-3 [g / 100 g pescado].

PUFA n-6 = Ácidos grasos poliinsaturados omega-6 [g / 100 g pescado].

C12:0= Ácido láurico [g / 100 g pescado]. No se encontró en el pescado.

C14:0 = Ácido mirístico [g / 100 g pescado].

C16:0= Ácido palmítico [g / 100 g pescado].

C18:0= Ácido esteárico [g / 100 g pescado].

La relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos (HH), se calculó de acuerdo con Santos-Silva *et al.* (2002), utilizando la siguiente fórmula:

$$HH = \frac{(C18:1c n-9 + C18:2 n-6 + C20:4 n-6 + C18:3 n-3 + C20:5 n-3 + C22:6 n-3)}{(C14:0 + C16:0)}$$

Donde:

MUFA = Ácidos grasos monoinsaturados [g / 100 g pescado].

PUFA n-3 = Ácidos grasos poliinsaturados omega-3 [g / 100 g pescado].

PUFA n-6 = Ácidos grasos poliinsaturados omega-6 [g / 100 g pescado].

C14:0 = Ácido mirístico [g / 100 g pescado].

C16:0= Ácido palmítico [g / 100 g pescado].

C18:1 n-9= Ácido oléico [g / 100 g pescado].

C18:2 n-6= Ácido linoléico [g / 100 g pescado].

ALA = Ácido alfa-linolénico C18:3 [g / 100 g pescado].

ARA = Ácido araquidónico C20:4 [g / 100 g pescado].

EPA = Ácido eicosapentaenóico C20:5 [g / 100 g pescado].

DHA = Ácido docosahexaenóico C22:6 [g / 100 g pescado].

Los valores de HH se espera que sean los más altos posibles y los de IA y IT lo más bajos posibles.

## **5.7 Índices de deterioro**

### **5.7.1 Medición del deterioro de proteínas**

La evaluación del deterioro de proteínas fue basada en el contenido de nitrógeno volátil total (NVT) y trimetilamina (TMA). Estos son los análisis químicos más utilizados para la evaluación del grado de deterioro en los productos pesqueros (Sallam *et al.*, 2007). El NVT fue medido usando el método de Malle & Poumeyrol (1989) que se describe a continuación:

1. Homogenizar 100 g de pescado molido con 200 mL de una solución acuosa de ácido tricloroacético al 7.5% (w/v), durante 2 min utilizando un procesador de alimentos (Oster® modelo 2614, México).
2. Filtrar el líquido sobrenadante, con papel filtro poro medio hasta obtener un extracto claro.
3. Tomar 25 mL del filtrado y se llevarlo al equipo de semi-micro de destilación Kjeldahl.
4. Destilar la alícuota por arrastre de vapor después de adicionar 6 mL de NaOH al 10%.
5. Recuperar 75 mL de destilado en un matraz Erlenmeyer con 15 mL de ácido bórico y 3 gotas de indicador de Wesselow.
6. Titular con HCl 0.1 N hasta el vire de verde a morado.
7. Calcular los mg de nitrógeno por 100 g de pescado con la siguiente fórmula:

$$\text{Nitrógeno} = \frac{\text{gasto} * N * 14 * (\text{TCA} + \text{muestra} * \text{humedad})}{\text{alícuota}} \left[ = \right] \frac{\text{mg nitrógeno}}{100 \text{ g}}$$

En donde:

Nitrógeno= Nitrógeno volátil total o trimetilamina [mg / 100g].

gasto = Gasto de HCl durante la titulación [mL].

N = Normalidad del HCl (0.1 N).

14 = Peso atómico del nitrógeno [g / mol].

TCA= Volumen de ácido tricloroacético utilizado para la extracción (200 mL).

muestra = Gramos de pescado analizados (100 g).

humedad = Humedad de la muestra [g de agua / g de muestra]

alícuota = Volumen de la alícuota de extracto que utiliza para el análisis (25 mL).

El mismo procedimiento experimental fue usado para la determinación de trimetilamina (TMA), pero con la adición de 20 mL de formaldehído al 35 % (v/v) antes de la adición de hidróxido de sodio, con el fin de bloquear las aminas primarias y secundarias, y así destilar únicamente las aminas terciarias como la TMA.

### **5.7.2 Medición del pH**

La medición de pH se llevó a cabo de acuerdo al método de Erkan *et al.* (2006), que consiste en:

1. Homogenizar 5 gramos de pescado molido con 10 mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer.
2. Agitar la mezcla por 1 minuto, con un agitador de vidrio y a temperatura ambiente.
3. Realizar la medición de pH con un medidor de pH digital marca Conductronic pH10 (Conductronic S.A., Puebla, Mexico) estandarizado a pH 4 y 7.

### **5.7.3 Determinación de la oxidación de lípidos**

La evaluación de la oxidación de lípidos fue basada en el cálculo de los índices de peróxido (IP) y de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), pues son métodos bien establecidos para la determinación de los productos de oxidación primaria y secundaria, respectivamente, de grasas y aceites (Quitral *et al.*, 2009).

### 5.7.3.1 Cálculo del índice de peróxido

El índice de peróxido (IP) fue determinado por el método del tiocianato férrico (Shantha & Decker, 1994) con modificaciones, ya que en vez de disolver el aceite de la muestra de pescado en cloroformo-metanol (7:3, respectivamente), se utilizó la fase clorofórmica obtenida en la extracción de 1.5 g de grasa por el método de Folch (Folch *et al.*, 1957). El procedimiento se basa en la oxidación de iones ferroso a iones férrico, y se explica a continuación:

1. Extraer la grasa de 1.5 g de pescado molido utilizando el método de Folch.
2. Colocar en un tubo de ensaye la fase clorofórmica obtenida y agregar metanol para obtener la proporción de cloroformo-metanol 7:3, respectivamente.
3. Adicionar 50  $\mu\text{L}$  de tiocianato de amonio al 30% (w/v), agitar en un vortex y posteriormente agregar 50  $\mu\text{L}$  de una solución de cloruro de hierro (II). La solución de  $\text{FeCl}_2$  fue preparada por precipitación de cloruro de bario con sulfato de hierro heptahidratado, la solución dura en refrigeración 30 días.
4. Mezclar la mezcla en vortex, e incubar durante 5 min a temperatura ambiente en la oscuridad.
5. Medir la absorbancia del tiocianato férrico a la absorbancia a 500 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6305) contra un blanco que contenía todos los reactivos excepto la muestra.
6. Expresar el índice de peróxido en miliequivalentes de peróxido por kg de pescado, de acuerdo a la curva tipo de  $\mu\text{g}$  de Fe (III) (ver anexo 3) y a la fórmula propuesta por Shantha & Decker (1994):

$$IP = \frac{Abs * (181.31) * Dilución}{55.84 * Muestra * 2} [=] \frac{meq \text{ peróxido}}{kg}$$

Donde:

Abs = Es la absorbancia medida a 500 nm.

181.31 = Valor de la pendiente obtenida de la curva tipo de peróxidos ( $\mu\text{g}$   $\text{Fe}^{3+}$ ).

55.84 = Peso atómico del hierro (g/mol).

Muestra = g de pescado molido utilizado (1.5 g).

2 = Factor para expresar el índice de peróxido como miliequivalentes de peróxido en vez de miliequivalentes de oxígeno, ya que el denominador indica la concentración de  $\text{Fe}^{+2}$  oxidado a  $\text{Fe}^{+3}$ .

Dilución = mL de la mezcla cloroformo-metanol en los que fue diluida la cantidad de grasa extraída para el análisis.

### 5.7.3.2 Cálculo del índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico

El índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) fue determinado colorimétricamente por el método de Erkan & Özden (2008) que se basa en la medición de absorbancia de un complejo colorido entre el ácido tiobarbitúrico (TBA) y el malonaldehído o productos semejantes a éste. El procedimiento es el siguiente:

1. Homogenizar 1.5 gramos de pescado molido con 45 mL de una solución acuosa de ácido tricloroacético al 7.5% (w/v) en un procesador de alimentos (Taurus SR-150) durante 2 min.
2. Filtrar la mezcla con papel filtro poro medio.
3. Pipetear 5 mL del extracto y colocarlo en un tubo de ensaye con 5 mL de reactivo de TBA (solución 0.02 M de ácido 2-tiobarbitúrico en ácido acético al 90%) que fue preparado minutos antes de la determinación.
4. Mezclar en un vortex por 30 s.
5. Colocar a baño maría durante 40 min a  $80^{\circ}\text{C}$ , posteriormente se enfrían al chorro del agua.
6. Medir la absorbancia a 532 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6305) contra un blanco de agua. Los valores de TBARS fueron expresados en miligramos de malondialdehído (MDA) por kg de pescado, ya que el MDA es uno de los principales productos finales de la oxidación de lípidos.
7. El cálculo de la concentración de MDA fue calculada de una curva tipo preparada a partir de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) que es precursor de MDA. El procedimiento se realizó de acuerdo a Botsoglou *et al.* (1994), obteniéndose la siguiente fórmula:

$$MDA = \frac{Abs - 0.0035}{0.0736} * \frac{extracto}{alícuota * muestra} * \frac{1000}{1000} [=] \frac{miligramos MDA}{kg pescado}$$

Donde:

MDA = Malonaldehído o productos semejantes a éste.

Abs = Es la absorbancia medida a 532 nm.

extracto = mL de extracto obtenido (45 mL).

alícuota = mL de la alícuota utilizada en el análisis (5 mL).

muestra = g de pescado molido utilizado (1.5 g).

1000 = Factor de conversión de g a kg.

1000 = Factor de conversión de µg a mg.

### **5.8 Análisis estadístico de los valores analíticos**

Las diferencias significativas entre los valores analíticos de composición química, ácidos grasos e índices de deterioro, obtenidos para cada especie en diferentes épocas del año, se determinaron mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía, el nivel de significancia se estableció al 5% ( $P < 0.05$ ). El software utilizado fue Minitab® versión 16.1.0 (State College, PE, USA).

### **5.9 Análisis de componentes principales**

El análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) de los parámetros de composición química y deterioro se llevo a cabo con el software Minitab® versión 16.1.0 (State College, PE, USA). El PCA de ácidos grasos se realizó con la función `dudi.pca` utilizando el paquete `ade4` (Dray & Dufour, 2007) del programa R versión 2.15.1 (R Core Team, 2012).

### 5.10 Adquisición de espectros MID-FTIR-ATR

Para obtener los espectros MID-FTIR-ATR se utilizó un espectrómetro por transformada de Fourier (FTIR) modelo GX marca PerkinElmer® (Massachusetts, USA), con un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) de seleniuro de zinc (ZnSe) con un ángulo de reflexión de 45° y con 10 reflexiones internas (ver figura 5.2). El procedimiento de adquisición fue el siguiente:

Antes de obtener el espectro de cada muestra se obtuvo el espectro de referencia o “background” de aire para eliminar la contribución espectral del ambiente, en especial del dióxido de carbono, esto se logra haciendo una lectura con el cristal ATR vacío a las mismas condiciones instrumentales de las muestra y el resultado se almacena en la computadora para tomarlo como blanco de referencia.



**Figura 5.2.** Accesorio de reflectancia total atenuada horizontal (ATR).

Para obtener los espectros MID-FTIR-ATR de las muestras, se colocaron aproximadamente 2 g de pescado molido sobre el cristal ATR y posteriormente se presionó la muestra con un accesorio de plástico para obtener un uniforme e íntimo contacto entre la muestra y el cristal.

Se obtuvieron los espectros MID-FTIR-ATR por cuadruplicado a temperatura ambiente, usando 64 barridos (“scans”) a una resolución de 4 cm<sup>-1</sup> en el intervalo de número de onda de 4000-700 cm<sup>-1</sup>, para obtener espectros con una buena resolución de los picos de absorbancia (Hernández-Martínez *et al.*, 2010a; Al-Jowder *et al.*, 2002). Los espectros MID-FTIR-ATR fueron procesados en el software Spectrum® versión 3.01.00 (PerkinElmer, Inc.), los espectros se promediaron de 2 en 2 de modo que para cada muestra se tuvieran 2 espectros promedio y para cada especie se tuvieran 68 espectros promedio. Todos los espectros promedio fueron utilizados para desarrollar el modelo.

### **5.11 Desarrollo de los modelos quimiométricos de calibración**

El desarrollo de los modelos quimiométricos de calibración implicó establecer una relación matemática entre los espectros MID-FTIR-ATR y los valores analíticos de la composición química, contenido de ácidos grasos, pH, índices de deterioro e índices nutricionales de las tres especies de pescado estudiadas: atún aleta azul, jurel y sierra.

Las relaciones se determinaron con el software Spectrum Quant+ ® versión 4.51.02 (Beaconsfield, Bucks, UK), utilizando el algoritmo de mínimos cuadrados parciales con interacción de variables (PLS-1, por sus siglas en inglés).

Los modelos de regresión se crearon utilizando 180 espectros MID-FTIR-ATR promedio provenientes de las tres especies estudiadas (60 espectros promedio provenientes de 30 muestras de cada especie), dichos espectros fueron utilizados tanto para el conjunto de calibración como para el conjunto de validación cruzada. Adicionalmente se utilizaron 24 espectros (8 espectros promedio provenientes de 4 muestras de cada especie) como conjunto de predicción.

El desarrollo de los modelos quimiométricos consistió en la correcta elección de la región espectral, los pretratamiento espectrales y el número de factores que mejor describan las propiedades que se desean predecir.

#### **5.11.1 Selección de las mejores regiones espectrales**

La selección de las regiones espectrales se realizó mediante el análisis de la gráfica de influencia ("Leverage graph") del programa Spectrum Quant+ ®, esta es una gráfica de diagnóstico que muestra la influencia de los picos de absorción en función del número de onda (ver Figura 6.17, sección de resultados). Si todos los números de onda con picos de absorción de alta influencia fueran utilizados en la calibración, habría un riesgo de "diluir" o menospreciar otras regiones útiles del espectro haciéndolas menos visibles para el algoritmo PLS-1 (Soriano *et al.*, 2007). Por otro lado, si se utilizan bandas de muy baja influencia en comparación con otras en el espectro, estas pueden contribuir con ruido y no con información

útil para la predicción de los parámetros (PerkinElmer, 2000). Es por ello, que las bandas de muy alta o muy baja influencia fueron excluidas del análisis con la aplicación de blancos espectrales.

### **5.11.2 Pretratamiento de los espectros MID-FTIR-ATR**

Se aplicaron distintos pretratamientos matemáticos a los espectros con el fin de obtener una adecuada habilidad predictiva del modelo. Los pretratamientos probados fueron:

- Aplicación de filtro Savitzky–Golay con 5 y 9 puntos de suavizado o “smooth”.
- Aplicación de corrección de “offset” sobre la línea base.
- Aplicación de primera derivada de 5 y 9 puntos.
- Aplicación de segunda derivada de 5 y 9 puntos.
- Aplicación de normalización tipo variable normal estándar (SNV) con y sin “de-trending”.
- Aplicación de normalización tipo corrección multiplicativa de la luz dispersa (MSC).

La elección de la mejor combinación de pretratamientos fue el resultado de ensayos de prueba y error.

### **5.11.3 Selección del número de factores**

Los factores son combinaciones lineales de las variables originales que el algoritmo PLS-1 calcula para representar fuentes significativas de variación en las características de los espectros que describan la variación de los datos químicos, es decir, representan la complejidad del modelo. De esta manera los factores reducen la dimensionalidad de los datos espectrales y son usados para describir y predecir los parámetros.

La selección del número de factores fue un paso clave en el proceso de calibración, pues el número de factores óptimo considera sólo la información necesaria para llevar a cabo la predicción de los parámetros.

La selección de un número bajo genera poco ajuste del modelo y grandes errores de predicción, mientras que un gran número genera sobreajuste, gran cantidad de ruido y grandes errores también (Sun, 2009).

El método de validación cruzada "leave-one-out" fue utilizado para seleccionar el número óptimo de factores en los modelos de regresión y también para evitar sobreajuste (Shenk & Westerhaus, 1995). En este tipo de validación cada espectro se retira uno a la vez del conjunto de calibración, desarrollando la calibración con los demás n-1 estándares, la composición del estándar retirado es posteriormente predicha usando esa calibración. Este procedimiento es repetido uno a la vez durante la calibración. Los errores en la validación de cada estándar excluido se combinan para obtener el error estándar de la validación cruzada (SECV, por sus siglas en inglés) (PerkinElmer, 2000).

El número de factores óptimo, para cada parámetro químico evaluado, se seleccionó en función del menor error estándar de validación cruzada (SECV, por sus siglas en inglés) que se pudiera obtener con él. Este análisis se llevó a cabo con ayuda de una gráfica de diagnóstico del programa Spectrum Quant+ en la que se presenta el SECV contra el número de factores para cada parámetro químico (ver Figura 6.18, sección de resultados).

#### **5.11.4 Optimización**

La optimización consistió en mejorar la habilidad predictiva de los modelos. Los modelos de calibración fueron optimizados de tal manera que se obtuvieran para cada parámetro modelado:

- Coeficiente de determinación ( $R^2$ ) lo más cercano a 1, se calculó para las muestras de calibración.
- Valores de error estándar de calibración (SEC, por sus siglas en inglés) y error estándar de validación cruzada (SECV, por sus siglas en inglés) lo más bajos posibles.

- Valores de desviación residual de predicción en la validación cruzada (RPDcv) lo más altos posibles.
- Valores de la pendiente (“slope”) de la gráfica valor estimado *versus* valor real, lo más cercanos a 1; el valor fue obtenido para el conjunto de calibración.
- Porcentajes de diferencia relativa (% RD) de las muestras de predicción lo más bajos posibles.

También, el adecuado desempeño del modelo fue evaluado a través del análisis de las distintas gráficas de diagnóstico que el programa Spectrum Quant+® muestra después de cada calibración.

Algunas gráficas de diagnóstico importantes son:

- Gráfica de Influencia (“Leverage graph”).
- Gráfica de SECV *versus* número de factores (“SECV graph”).
- Gráfica de muestras atípicas (“Outliers graph”).
- Gráfica de valores estimados por el modelo *versus* valores reales.

Las gráficas indican cuales modelos de calibración describen adecuadamente los estándares de calibración, o los problemas potenciales existentes en los estándares. Algunas gráficas se analizan simultáneamente y a la par de la obtención del número de factores óptimos, éstas gráficas serán analizadas más a detalle en la sección de resultados.

Por otro lado, las ecuaciones utilizadas para evaluar la capacidad predictiva del modelo fueron las siguientes:

#### **a) Coeficiente de determinación ( $R^2$ )**

El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) indica en un modelo cual es la proporción de la varianza de la variable dependiente (x) que es explicada por la variable independiente (y). La ecuación es la siguiente:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y}_i)^2}$$

Donde:

$y_i$  es la concentración real (de referencia) de una muestra  $i$ .

$\hat{y}_i$  es la concentración calculada por el modelo de una muestra  $i$ .

$\bar{y}_i$  es el valor promedio de las concentraciones reales de una muestra  $i$ .

### b) Error estándar de calibración (SEC)

El error estándar de calibración (SEC) es el error promedio de los valores reales respecto a los estimados por el modelo, pero considerando las muestras de calibración. Se calcula para cada propiedad y tiene las mismas unidades en las que se mide la concentración de la propiedad evaluada:

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{N_c - f - 1}}$$

Donde:

$\hat{y}_i$  es la concentración calculada por el modelo de una muestra  $i$ .

$y_i$  es la concentración real (de referencia) de una muestra  $i$ .

$N_c$  es el número de muestras de calibración.

$f$  es el número de factores usados en el modelo de calibración.

### c) Error estándar de validación cruzada (SECV)

El error estándar de validación cruzada (SECV) es el promedio de los errores de los valores reales respecto a los estimados que se obtienen en una validación cruzada. En ésta, un estándar se retira de la regresión y el modelo es construido usando los otros  $n-1$  estándares. El estándar removido es luego predicho por el modelo. Esto se hace para cada estándar del conjunto de calibración. El SECV se calcula para cada propiedad y tiene las mismas unidades en las que se mide la

concentración de la propiedad evaluada. La fórmula utilizada para su cálculo es la siguiente:

$$SECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{N_{cv} - 1}}$$

Donde:

$\hat{y}_i$  es la concentración calculada de una muestra  $i$  por el modelo construido dejando fuera la muestra  $i$ .

$y_i$  es la concentración real calculada de una muestra  $i$ .

$N_{cv}$  es el número de muestras de utilizadas en la validación cruzada.

#### **d) Desviación residual de predicción en la validación cruzada (RPD<sub>cv</sub>)**

La desviación residual de predicción en la validación cruzada (RPD<sub>cv</sub>, por sus siglas en inglés) fue calculada para cada parámetro. RPD<sub>cv</sub> se define como la relación entre la desviación estándar (SD) de los datos y el error estándar de validación cruzada (SECV). Este valor permite establecer una comparación justa entre las calibraciones para diferentes propiedades que tienen un número diferente de muestras o con diferentes intervalos de datos, de modo que permite probar la exactitud de distintos modelos de calibración (Williams, 2001).

$$RPD_{cv} = \frac{SD}{SECV}$$

#### **5.11.5 Predicción de nuevas muestras**

El desempeño de los modelos de calibración fue posteriormente validado usando muestras no incluidas en el conjunto de calibración. Para los modelos de predicción de ácidos grasos individuales y grupos de ácidos grasos se utilizaron 6 muestras (2 de cada especie de pescado), y para los parámetros de composición química y de índices de deterioro y nutricionales se emplearon 12 muestras (4 muestras de cada especie de pescado).

Los valores predichos por el modelo fueron correlacionados con los valores reales y la exactitud de la predicción fue evaluada a través de los siguientes parámetros estadísticos:

- a) **Porcentaje de diferencia relativa (% RD)**. Los valores fueron calculados con la siguiente fórmula:

$$\% RD = \frac{(\text{valor predicho} - \text{valor real})}{\text{valor real}} * 100$$

- b) **Distancia de Mahalanobis**, determina la similitud espectral de las muestras y debe ser menor a 1.
- c) **Distancia total de Mahalanobis**, es la relación entre la distancia de Mahalanobis de la muestra desconocida y el valor límite de las observaciones diferentes a la población. Su valor debe ser menor a 1.
- d) **Error residual**, es una medida del error asociado con el valor de la propiedad calculada por el modelo; ya que tiene las mismas unidades que la propiedad, su valor debe ser lo más bajo posible en relación a la magnitud de la propiedad.
- e) **Relación de residuales**, también debe ser menor a 3, ya que de no ser así sugiere que la validación del espectro tiene características no modeladas por el número de factores seleccionados (PerkinElmer, 2000).

También se usó una hoja de cálculo de Excel 2013 para calcular el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) obtenido al correlacionar los datos reales con los predichos de las concentraciones de los parámetros químicos, para conocer la capacidad predictiva del modelo.

# RESULTADOS

“L'art est fait pour troubler, la science rassure”  
 (“Mientras la ciencia tranquiliza, el arte perturba”)

Georges Braque  
(1882 - 1963) Pintor y escultor francés

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Composición química

El Cuadro 6.1 muestra la caracterización química de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra, en función de la época del año. Comparando cada especie en función de la época del año, se observó que en el contenido de humedad no hubo diferencia significativa en verano e invierno, para ninguna de las especies, siendo otoño la estación con mayor variación. En cuanto al contenido de grasa, el atún aleta azul mostró una mayor variación dependiendo de la época del año. El jurel no mostró diferencia significativa en ninguna estación; y la sierra no presentó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en verano y otoño, pero sí en invierno. Respecto al contenido de proteína, el atún mostró diferencia significativa en las tres épocas del año; el jurel y la sierra no mostraron diferencias significativas en otoño e invierno, pero sí en verano. Finalmente, en cuanto a las cenizas, el atún no mostró diferencia significativa en otoño e invierno; el jurel mostró diferencia significativa en las tres épocas de año y la sierra no mostró diferencia significativa en ninguna época. En general, para el atún hubo mayores cambios en la composición química en función de la época del año, que para el jurel y la sierra cuyas muestras no mostraron tanta variación.

La variación en la composición química del pescado puede ser atribuída a varios factores como talla del pez, madurez sexual, alimentación, nado migratorio, entre otros (Castro-González et al., 2007; Huss, 1999). Es complejo determinar cuales de estos factores están involucrados en los cambios de composición química, ya que en una misma especie pueden existir grandes variaciones, inclusive más que entre diferentes especies (Castro-González *et al.*, 2007). Un aspecto que distingue al atún aleta azul en comparación con la sierra y el jurel son sus largas migraciones y que cada individuo se reproduce cada 2-3 años (Del-Moral & Vaca, 2009; Lioka *et al.*, 2000), esto puede explicar la mayor variación de su composición química.

También, la temporada de reproducción puede explicar las variaciones estacionales. Si el pez es capturado después del desove se espera encontrar un menor contenido de lípidos y/o proteína, por agotamiento de sus reservas debido al gasto energético o los periodos de inanición. En cambio, si se captura en otros periodos se puede tener mayor contenido de grasa. Para el atún aleta azul y la sierra, su periodo de desove es entre abril y junio (FMNH, 2013a; Lucano-Ramírez *et al.*, 2011; Del-Moral & Vaca, 2009), lo que explicaría porque las muestra de verano tienen menor contenido de proteína, aunque mayor contenido de grasa, posiblemente porque ésta tiene un marcado y rápido aumento después del periodo de reproducción (Castro-González *et al.*, 2007).

Comparando las tres especies, sin importar la época del año, el jurel tiene un mayor contenido de humedad que las otras especies, la sierra tiene un mayor contenido de grasa, y el atún tiene un mayor contenido de proteína y cenizas.

**Cuadro 6.1.** Caracterización química, por época del año, de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra.

Composición Química g /100 g filete	Atún aleta azul			Jurel			Sierra		
	Verano (n=11)	Otoño (n=11)	Invierno (n=12)	Verano (n=11)	Otoño (n=11)	Invierno (n=12)	Verano (n=11)	Otoño (n=11)	Invierno (n=12)
Humedad	74.17 <sup>c</sup> (±0.75)	71.52 <sup>e</sup> (±0.36)	73.66 <sup>c</sup> (±0.27)	76.83 <sup>a</sup> (±0.43)	75.16 <sup>b</sup> (±0.82)	76.33 <sup>a</sup> (±1.04)	73.85 <sup>c</sup> (±0.67)	72.47 <sup>d</sup> (±1.91)	73.71 <sup>c</sup> (±0.86)
Grasa total	4.90 <sup>b</sup> (±0.87)	3.07 <sup>cd</sup> (±0.86)	2.17 <sup>d</sup> (±0.60)	3.30 <sup>c</sup> (±0.43)	3.84 <sup>c</sup> (±0.93)	2.92 <sup>cd</sup> (±1.39)	7.19 <sup>a</sup> (±0.71)	7.25 <sup>a</sup> (±2.11)	5.53 <sup>b</sup> (±1.25)
Proteína	19.51 <sup>cd</sup> (±0.48)	24.33 <sup>a</sup> (±0.89)	22.94 <sup>b</sup> (±0.61)	18.53 <sup>e</sup> (±0.12)	19.92 <sup>c</sup> (±0.30)	19.55 <sup>cd</sup> (±1.16)	17.83 <sup>f</sup> (±0.48)	19.21 <sup>d</sup> (±0.59)	19.61 <sup>cd</sup> (±0.64)
Cenizas	1.42 <sup>a</sup> (±0.03)	1.23 <sup>c</sup> (±0.04)	1.26 <sup>c</sup> (±0.04)	1.34 <sup>b</sup> (±0.06)	1.09 <sup>e</sup> (±0.04)	1.25 <sup>c</sup> (±0.06)	1.14 <sup>de</sup> (±0.03)	1.12 <sup>de</sup> (±0.06)	1.15 <sup>d</sup> (±0.11)

Nota: Los valores se expresan como media (± desviación estándar). Medias con letras diferentes dentro de la misma fila son significativamente diferentes (p <0.05).

El Cuadro 6.2 muestra los resultados promedio de la composición química de las especies de peces analizadas en comparación con la información reportada en

las tablas de composición de alimentos mexicanos (Castro-González *et al.*, 2004; Castro-González *et al.*, 2007; Muñoz *et al.*, 2010). Se encontraron algunas discrepancias entre la composición química de las especies, sobretodo en cuanto al contenido de grasa. Estas variaciones concuerdan con lo señalado por Gram & Huss (2000) que afirman que la composición química de los peces varía según la especie, la edad, el medio ambiente, temporada, etc. Cabe señalar, que datos de atún aleta azul no fueron encontrados, por lo que se compara con atún aleta amarilla. En general, la información sobre las especies es escasa y no coincide del todo para atún y sierra.

**Cuadro 6.2.** Composición química promedio de atún aleta azul, jurel y sierra, y su comparación con lo reportado en otras referencias.

Parámetro (g /100 g filete)	Atún aleta azul	Atún aleta amarilla			Jurel		Sierra		
	Presente trabajo	Castro- Glez <i>et</i> <i>al.</i> ,2004	Castro- Glez <i>et</i> <i>al.</i> ,2007	Muñoz <i>et al.</i> , 2010 *	Presente trabajo	Castro- Glez <i>et</i> <i>al.</i> ,2004	Presente trabajo	Castro- Glez <i>et</i> <i>al.</i> ,2004	Muñoz <i>et al.</i> , 2010
Humedad	73.40 (±1.10)	76.31 (±0.08)	75.24	69.8 - 75.6	76.28 (±1.01)	74.1 (±0.08)	73.35 (±1.39)	67.4 (±0.20)	74.54
Grasa total	3.32 (±1.44)	4.94 (±0.11)	0.76	7.4 - 15.7	3.25 (±1.11)	2.52 (±0.25)	6.60 (±1.65)	4.60 (±0.22)	13.90
Proteína	22.02 (±2.04)	18.68 (±0.01)	22.37	13.8 - 15.1	19.25 (±0.96)	21.30 (±0.14)	18.91 (±0.91)	18.80 (±0.08)	17.02
Cenizas	1.31 (±0.09)	---	0.90	1.25 - 1.50	1.25 (±0.10)	---	1.13 (±0.08)	---	---
Carbohi- dratos	---	---	---	0.00	---	---	---	---	0.00

\*Atún enlatado, en aceite, sin drenar

## 6.2 Deterioro del pescado

Para tener una mayor variación de los datos analíticos, las muestras de filetes de pescado de atún aleta azul, jurel y sierra fueron analizadas durante 13 días en refrigeración entre 0-0.5 °C; aunque los lotes de “atún otoño” y “atún

invierno” se analizaron hasta el 14° día de almacenamiento para observar mayores cambios de la especie atún.

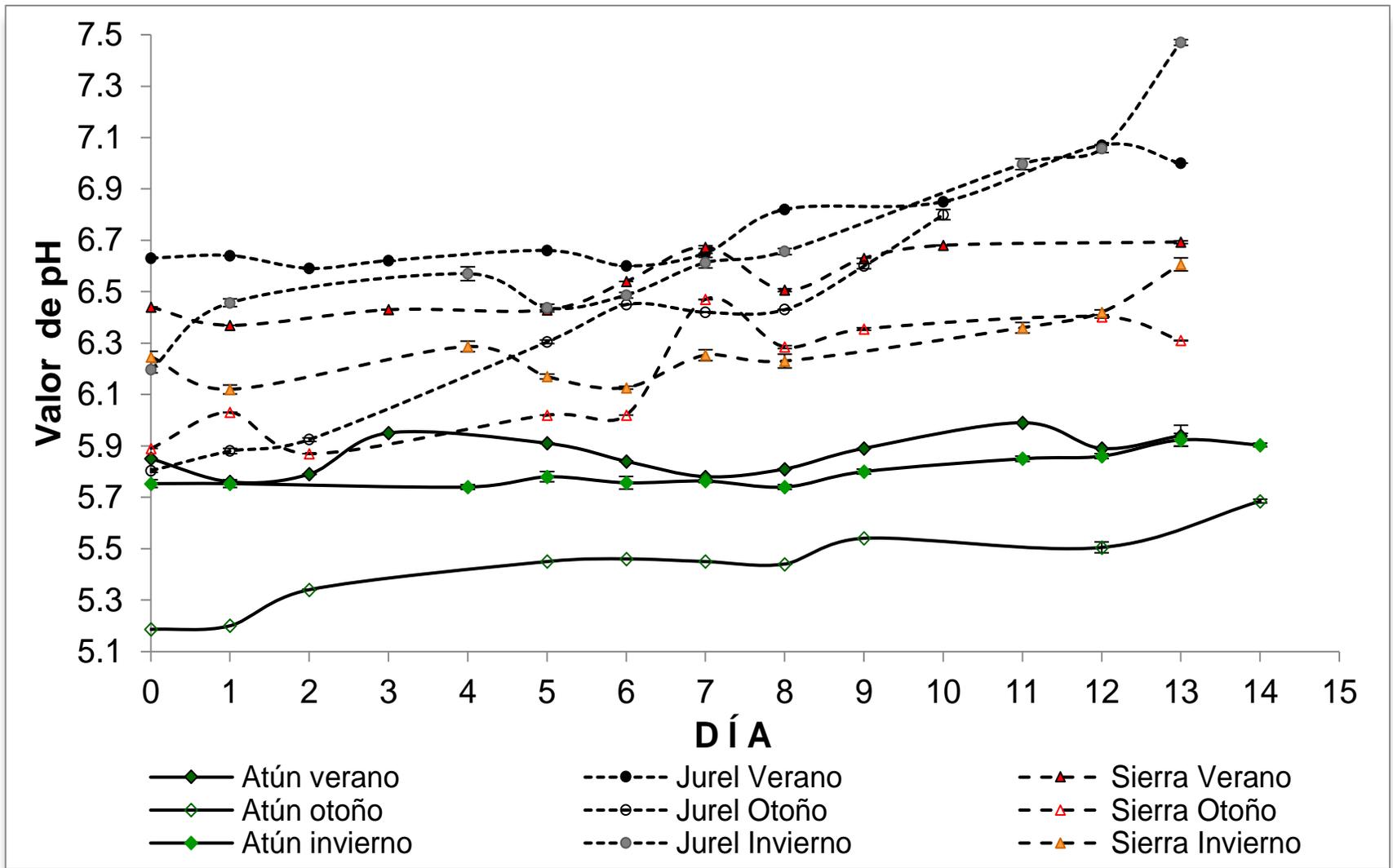
### 6.2.1 Variación del pH

La Figura 6.1 muestra la evolución del valor de pH durante el almacenamiento de los filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. Se puede observar una fluctuación en los valores de pH, pero con incrementos a lo largo de los días de almacenamiento, aunque sólo para la sierra y el jurel hubo cambios estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ) con el tiempo. El incremento en el valor de pH, es posiblemente debido a la acción de bacterias del deterioro, pues se ha reportado incrementos de pH debido a la descomposición de compuestos amino, principalmente por la actividad microbiana, lo que generan compuestos alcalinos indeseables (Erkan & Özden, 2008; Sallam, 2007).

El incremento en pH depende del valor de pH inicial, el cual fue distinto para todas las especies; éste valor está relacionado con la especie, estado nutricional del pez, la cantidad y grado de agotamiento al momento de la muerte, ya que esto tienen un efecto en los niveles de glucógeno almacenado y consecuentemente en el pH *post mortem* final (Huss, 1999).

En el atún se observan valores de pH mucho más bajos que en el jurel o la sierra, esto concuerda con lo reportado por Gram & Huss (2000) que reportan valores de pH de 5.5 para especies como el atún. El bajo pH resulta de la rápida descomposición de los azúcares en el atún, debido a adaptaciones especiales de su sistema circulatorio que permiten la retención o disipación rápida del calor metabólico, según su actividad (BIOPESCA, 2009).

El pH es un parámetro que puede indicar la frescura del pescado, pero es de mayor utilidad en el procesamiento del pescado, ya que tiene que ver con las propiedades físicas de músculo. A pH más bajos, se reduce la carga neta de la superficie de las proteínas musculares, causando su desnaturalización parcial y disminuyendo su capacidad de enlazar agua, esta pérdida de agua tiene un efecto perjudicial en la textura del músculo (Huss, 1999).



**Figura 6.1.** Evolución del valor del pH en filetes de atún aleta azul, jurel y sierra durante su almacenamiento a 0-0.5 °C. Los resultados representan el promedio de 3 determinaciones  $\pm$  desviación estándar.

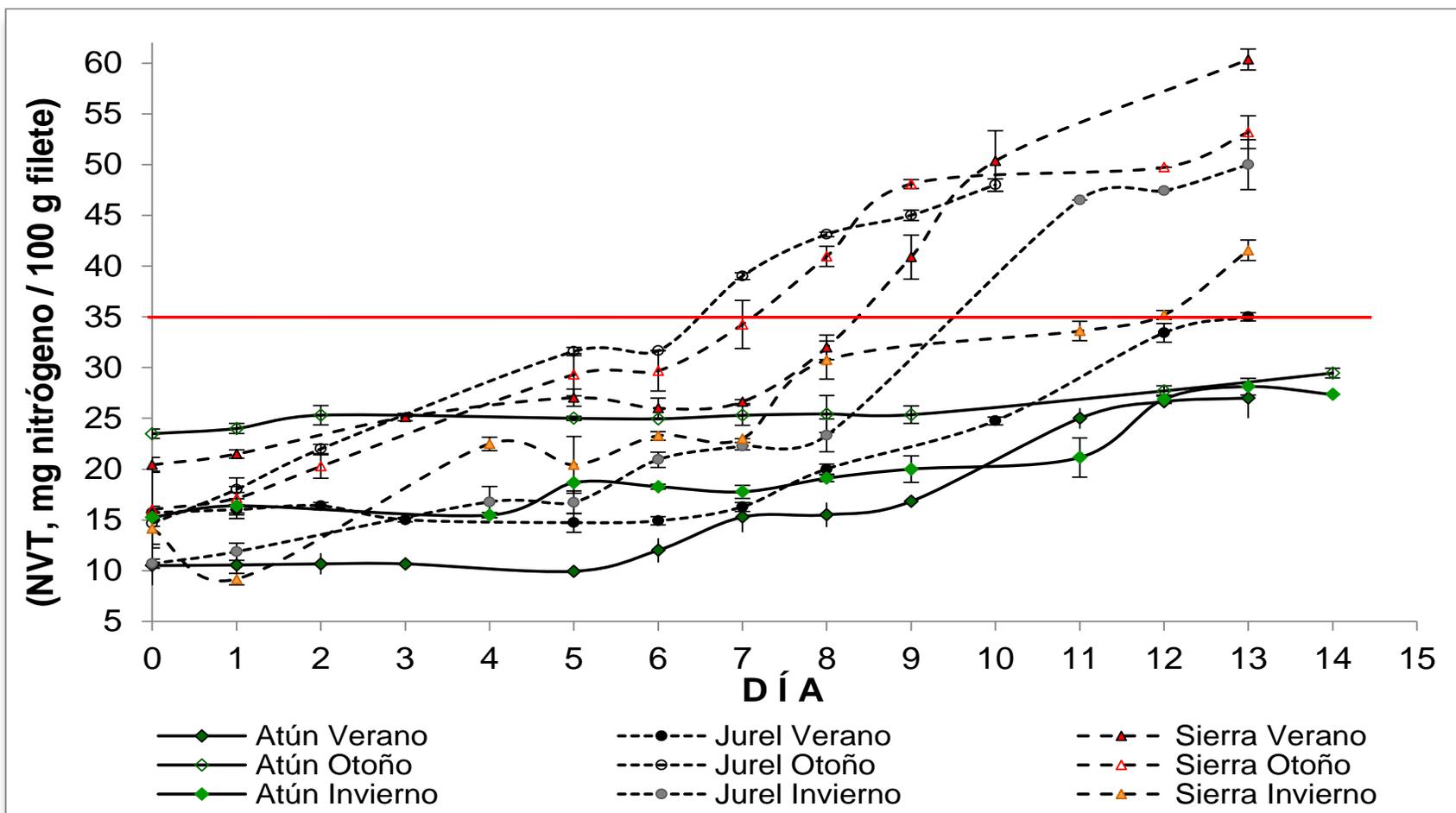
### 6.2.2 Deterioro de proteínas

En las Figuras 6.2 y 6.3 se observa la evolución del contenido de nitrógeno volátil total (NVT) y trimetilamina (TMA). Se puede apreciar que durante los primeros 5-7 días de almacenamiento hubo un incremento lento de los parámetros, posteriormente el incremento fue más pronunciado, siendo significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) después de 6-8 días de almacenamiento.

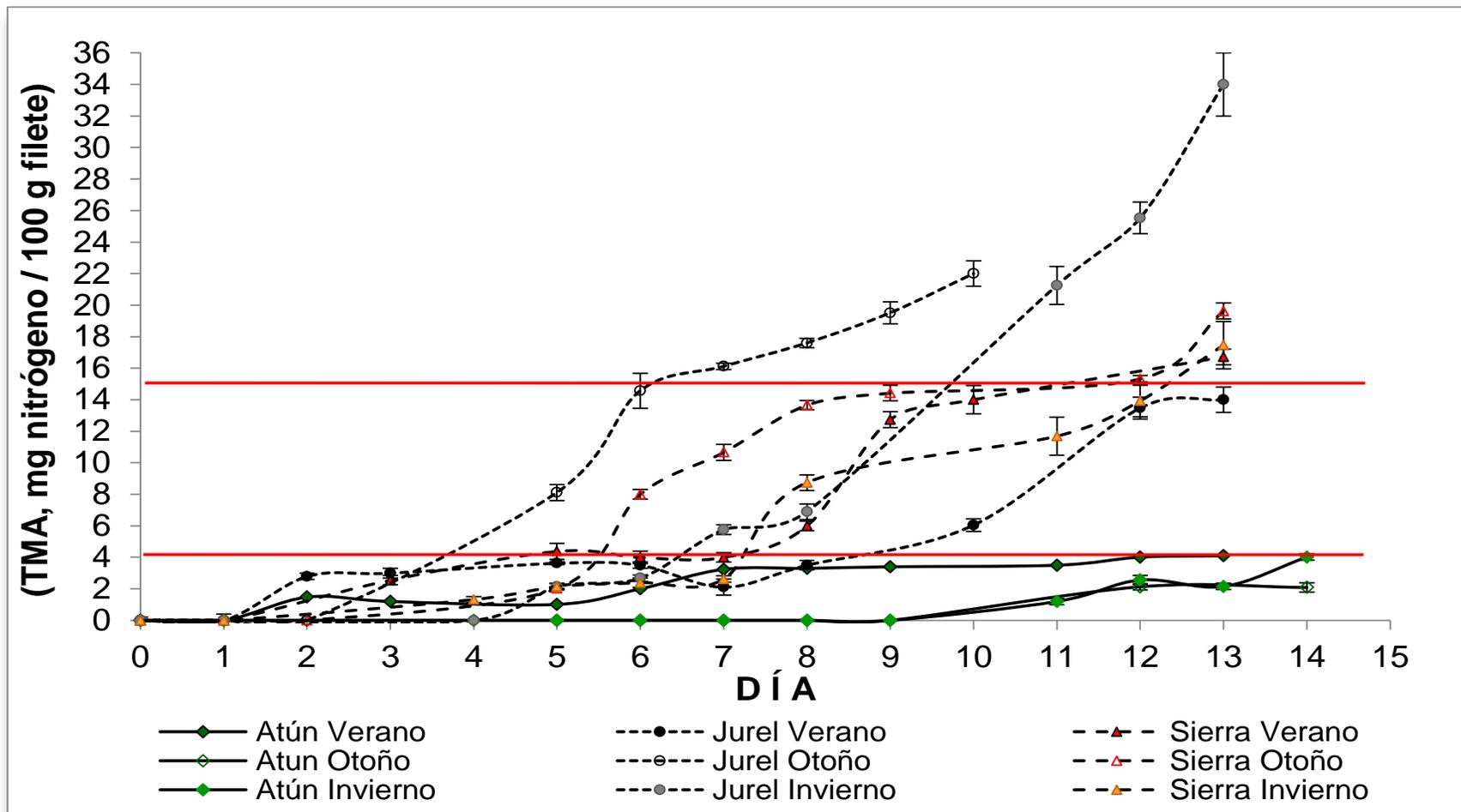
Al igual que con el valor de pH, este aumento puede explicarse como resultado de la formación y acumulación de diferentes tipos de compuestos alcalinos, debido a la actividad microbiana o a la presencia de enzimas endógenas (Ruiz-Capillas & Moral, 2005). Es por ello, que el inicio del marcado aumento de NVT y TMA fue distinto en los lotes. En el caso de “jurel otoño” y “sierra otoño” se observó un rápido incremento de éstos parámetros, debido posiblemente a la presencia de un gran número de bacterias del deterioro.

En los primeros días el NVT se incrementó ligeramente, esto posiblemente corresponda sólo al amoniaco liberado por desaminación de aminoácidos por autólisis (Huss, 1999). El inicio del incremento pronunciado de NVT y TMA, puede ser explicado como resultado del final de la fase de latencia de los microorganismos (fase lag), este fenómeno también ha sido reportado en otras investigaciones (Rodríguez, *et al.*, 2005; Aubourg, 2001).

Un patrón similar del aumento en los valores de NVT y TMA se ha informado durante el almacenamiento de salmón refrigerado (Hozbor *et al.*, 2006), jurel conservado en hielo (Rodríguez *et al.*, 2005) y de jurel refrigerado (Aubourg, 2001). Sin embargo, los contenidos de NVT y TMA en el atún aleta azul no mostraron cambios importantes durante el almacenamiento, como las otras especies analizadas, estos resultados coinciden con los reportados por Selmi & Sadok (2008) para el atún aleta azul, este comportamiento puede ser debido a los bajos valores de pH de esta especie.



**Figura 6.2.** Evolución del nitrógeno volátil total (NVT) en filetes atún aleta azul, jurel y sierra durante su almacenamiento a 0-0.5 °C. Los resultados representan el promedio de 3 determinaciones  $\pm$  desviación estándar. La línea roja a 35 mg de nitrógeno es el límite de aceptabilidad para el pescado almacenado en hielo.



**Figura 6.3.** Evolución del contenido de trimetilamina (TMA) en filetes atún aleta azul, jurel y sierra durante su almacenamiento a 0-0.5 °C. Los resultados representan el promedio de 3 determinaciones  $\pm$  desviación estándar. La línea a 15 mg de nitrógeno es el límite de aceptabilidad sugerido para jurel y sierra, y la línea a 4 mg de nitrógeno el límite de aceptabilidad sugerido para el atún aleta azul.

El contenido de NVT se utiliza a menudo como un índice para evaluar la calidad y la vida útil de los productos del mar, porque la concentración de NVT en el pescado recién capturado es típicamente entre 5 y 20 mg N/100 g, mientras que el nivel de 30 a 35 mg N / 100 g de filete es generalmente considerado por las autoridades (CEC, 1995; SSA, 1993) como el límite de aceptabilidad para el pescado almacenado en hielo, es decir que después de ese límite el pescado no se considera apto para consumo (Connell, 1995; Egan *et al.*, 1981).

En este estudio, los valores de NVT fueron menores a 35 mg N /100 g durante todo el periodo de almacenamiento del atún aleta azul y para la mayoría de las muestras de sierra y jurel.

Cabe indicar que el contenido de NVT es mucho mayor al de TMA, ya que el primero incluye la medición de TMA, dimetilamina, amoníaco y otros compuestos nitrogenados volátiles asociados con el deterioro de productos pesqueros (Malle & Poumeyrol, 1989). El comportamiento de ambos índices fue muy similar (Figuras 6.2 y 6.3).

En relación al contenido de TMA, existen en la literatura distintos valores para el límite máximo de TMA que garantice la aceptabilidad del pescado: 1 mg N/100 g (Kyrana *et al.*, 1997); 2–3 mg N/100 g (Goulas & Kontominas, 2007); 10–15 mg N/100 g (Dalgaard, 1993; Connell, 1990). El límite a considerar, tendrá que estar en función de la especie, pues hay estudios de pescado refrigerado que reportan valores de TMA de 0.7 mg N / 100 g (Bahmani *et al.*, 2011) o de 5 mg N / 100 g (Cakli *et al.*, 2007) después de un periodo de 16 y 18 días en refrigeración, respectivamente. Para las especies analizadas no hay una referencia de límite de aceptabilidad, pero para jurel y sierra podría ser conveniente el límite de 15 mg N/ 100 g, ya que el tiempo en el que se obtienen esos valores de TMA coincide con el tiempo en que se alcanzan los valores de no aceptación de NVT. Para el atún aleta azul, se podría proponer un límite más bajo, posiblemente de 4-5 mg N / 100 g, ya que en todo el estudio no se obtuvieron valores de TMA o NVT altos.

Respecto al significado del contenido de TMA, se espera que el pescado fresco tenga bajos valores, ya que no se encuentra TMA en los primeros 3-5 días de almacenamiento en hielo (Gram & Huss, 1996). La presencia de este compuesto se ha relacionado con la pérdida de frescura en el pescado marino debido a las bacterias del deterioro transforman el óxido de trimetilamina (OTMA) a trimetilamina (TMA) por acción de la enzima bacteriana óxido de trimetilamina reductasa. Por otro lado, la cantidad de TMA formada también depende de la concentración inicial de OTMA en el músculo que depende a su vez de la especie, la estación, zona de pesca (Huss, 1999). En particular de la zona de pesca (Kelley & Yancey, 1999) pues el contenido de OTMA es mayor en las especies abisales que en las que viven en zonas de poca profundidad. Debido a estos factores se tienen discrepancias en cuanto al nivel máximo recomendable de TMA en el pescado.

### **6.2.3 Deterioro de grasas**

La oxidación de los lípidos corresponde al deterioro de los ácidos grasos, sobre todo poliinsaturados en el músculo de pescado, y lleva a la producción de sabores y olores desagradables, acortando así la vida útil de los alimentos (Ramanathan & Das, 1992). La Figura 6.4 muestra el cambio del índice de peróxido (IP) durante el almacenamiento en refrigeración de atún aleta azul, jurel y sierra, se reporta en las unidades habituales de miliequivalentes de peróxido / kg de filete. Este índice representa la presencia de hidroperóxidos que son productos de la oxidación primaria de los lípidos.

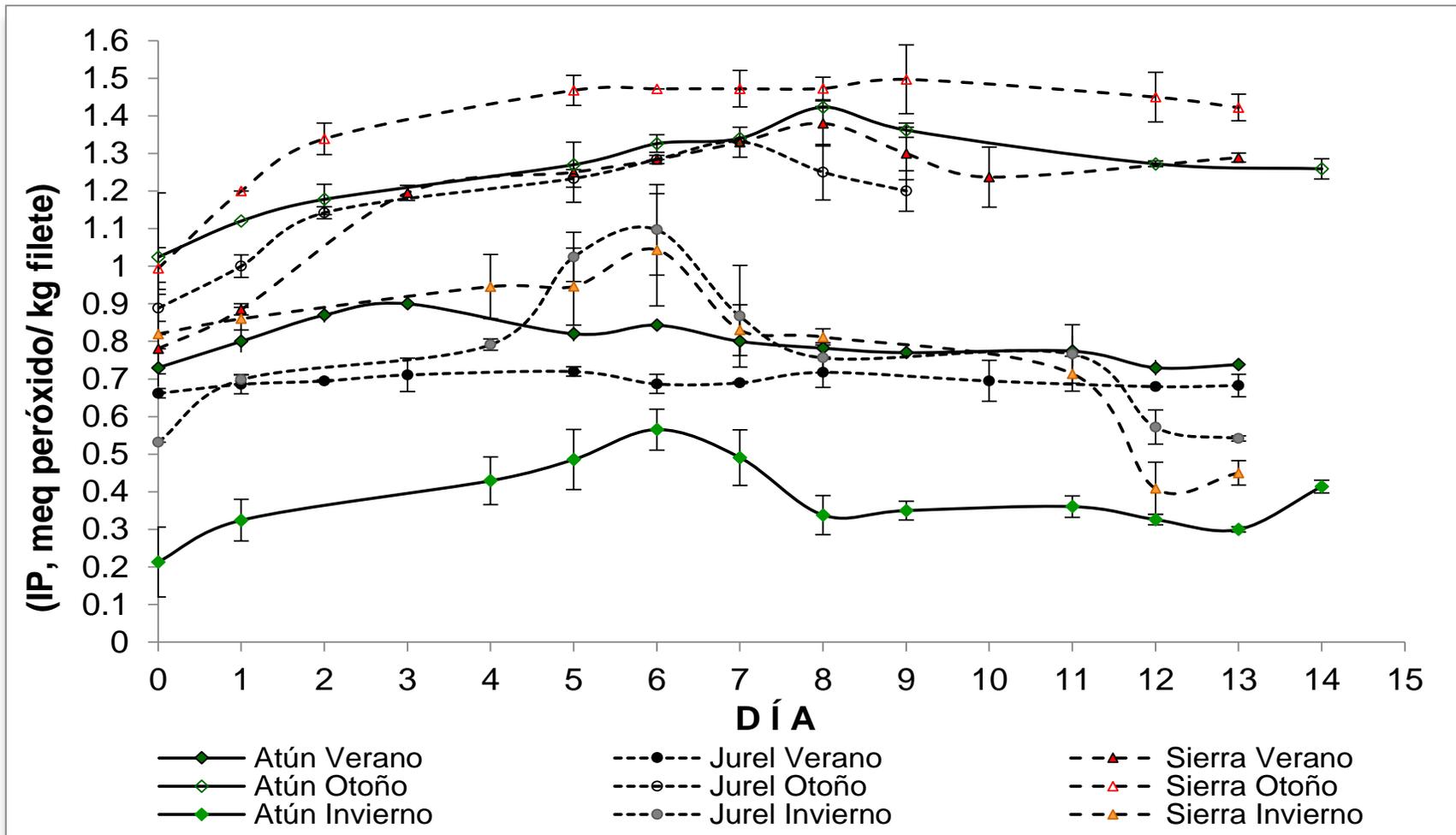
El IP muestra un incremento gradual hasta cierto punto durante el almacenamiento, posteriormente hay una disminución en los valores o una menor tasa de aumento. Esto se puede explicar como resultado de la interacción de los productos de oxidación con compuestos amino (proteínas, péptidos, aminoácidos libres y fosfolípidos), glucosa y otros componente del pescado (Goulas & Kontominas, 2007; Aubourg, 1999).

La disminución del IP que se observó puede deberse a que después de varios días de almacenamiento ocurre la descomposición de hidroperóxidos en radicales secundarios que experimentan reacciones para formar productos de oxidación secundaria. Es decir, un valor bajo del IP puede indicar tanto una fase temprana de autooxidación como en una fase tardía.

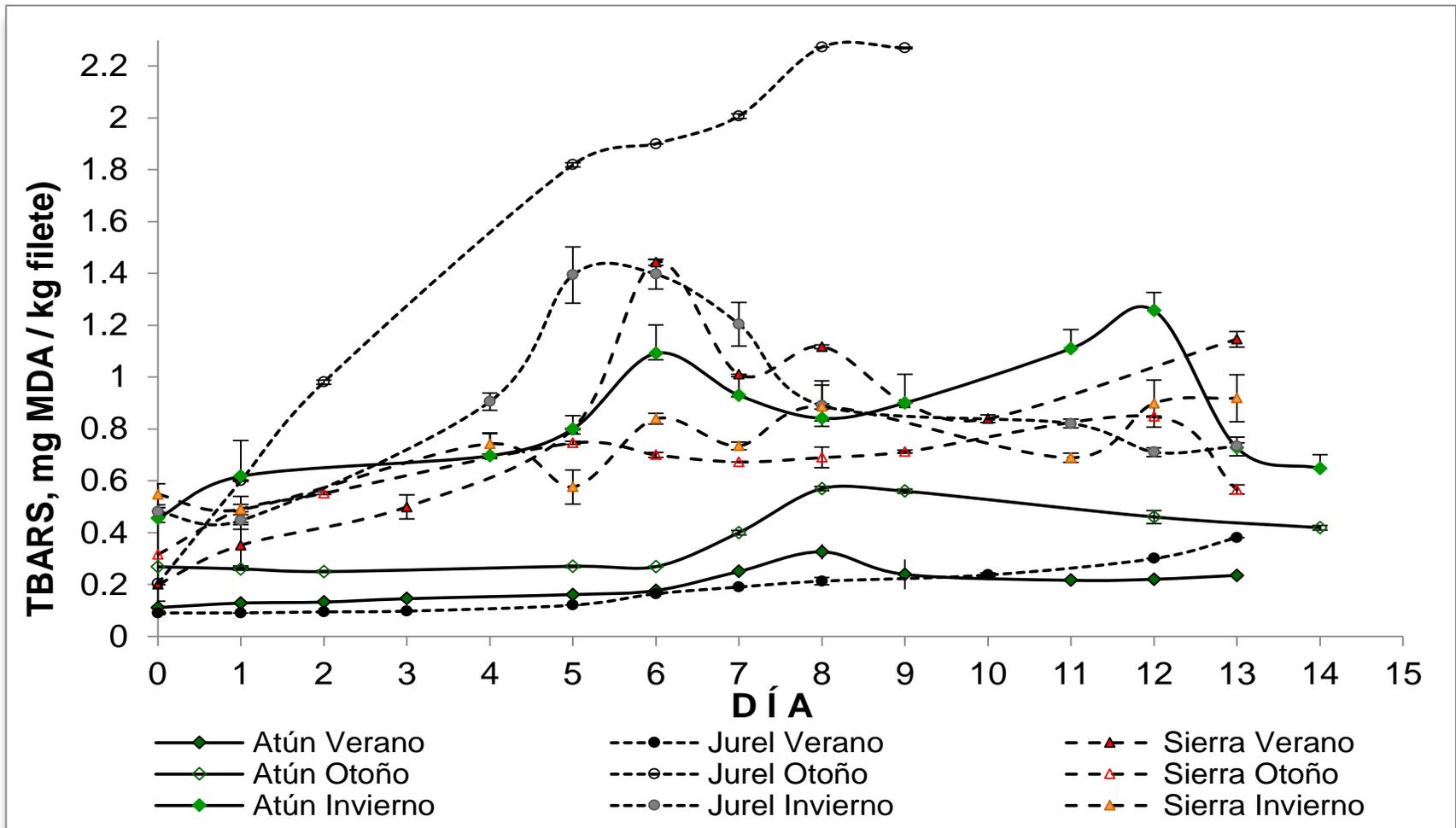
La Figura 6.5 muestra la evolución del índice de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), que representa la oxidación secundaria de los lípidos en el pescado, se reporta en las unidades habituales de miligramos de MDA / kg de filete. Se observa un comportamiento similar al del IP, ya que hay un aumento de TBARS en los primeros días de almacenamiento, y posteriormente un incremento más lento. El índice de TBARS es una medida del contenido de manondialdehído y es común que éste interaccione con aminoácidos y proteínas del pescado, es por eso que disminuye su presencia (Goulas & Kontominas, 2007; Fernandez *et al.*, 1997).

Aunque también se observó un comportamiento atípico en algunos lotes (“atún invierno” y “sierra verano”) donde se observó un nuevo incremento del índice de TBARS, no se tiene una explicación para esto.

En general, es difícil establecer comparaciones entre las muestras, ya que todas inician con diferentes contenidos de IP y TBARS. Para facilitar el análisis se gráfcaron los valores de IP y TBARS referidos al valor inicial de las muestras (ver anexo 4). Se observó que se obtuvieron mayores valores de IP para las muestras de sierra, jurel y atún, en ese orden y en concordancia con el contenido de grasa. Los cambios también son dependientes de la presencia de ácidos grasos poliinsaturados, por ejemplo el lote de muestras de atún verano presentó un rápido descenso del IP, debido posiblemente a su gran contenido de PUFA de estas muestras. Con el índice de TBARS las tendencias no fueron tan claras, aunque también se obtuvieron mayores valores iniciales para los lotes con mayor contenido de grasa, con excepción del lote “jurel otoño”, que mostró valores de TBARS demasiado altos.



**Figura 6.4.** Evolución del índice de peróxido (IP) en filetes de de atún aleta azul, jurel y sierra durante su almacenamiento a 0-0.5 °C. Los resultados representan el promedio de 3 determinaciones  $\pm$  desviación estándar.



**Figura 6.5.** Evolución del índice de las sustancias reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico (TBARS) en filetes de atún aleta azul, jurel y sierra durante su almacenamiento a 0-0.5 °C. Los resultados representan el promedio de 3 determinaciones  $\pm$  desviación estándar.

Los valores máximos aceptables de estos índices están relacionados con la naturaleza del producto y en cuanto a su contenido de grasa.

El IP por sí solo no puede ser relacionado con la calidad sensorial, ya que los hidroperóxidos carecen de olor y sabor, pero puede indicar un potencial para la formación posterior de compuestos sensorialmente objetables y que afecta la calidad nutricional del pescado (Huss, 1999). En cambio en la oxidación secundaria, los compuestos formados tienen olores y sabores desagradables, que combinados producen el carácter "a pescado rancio" asociado con los lípidos oxidados del pescado.

Cabe señalar que cada punto de las cinéticas de deterioro se calculó con un filete de pescado distinto, y que el diferente contenido de lípidos entre las muestras del lote, es una posible causa de variación. Esto no presentó un problema, ya que el objetivo de almacenar los filetes en refrigeración fue obtener una mayor variabilidad en los valores de pH e índices de deterioro, lo cual se obtuvo.

### **6.3 Perfil de ácidos grasos**

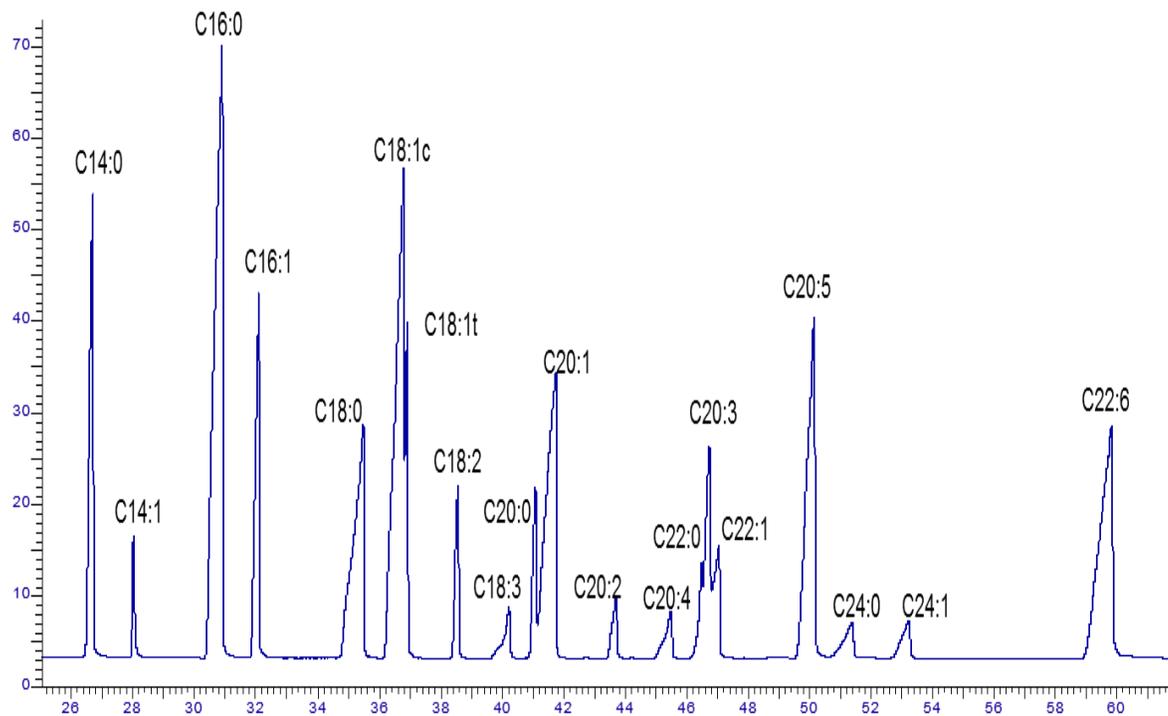
#### **6.3.1 Perfil de ácidos grasos de la mezcla de estándares**

En el Cuadro 6.3 se presenta el orden de elución, los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) de las curvas tipo, los tiempos de retención mínimos y máximos, así como la concentración de cada estándar de la mezcla de estándares (Restek 35066) utilizada para identificar el perfil de ácidos grasos (AG) de las muestras atún aleta azul, jurel y sierra.

La Figura 6.6 muestra el cromatograma de la mezcla de estándares, los tiempos de retención fueron hasta de una hora, debido a que la columna utilizada fue de 105 m, para garantizar la buena separación de los ácidos grasos. A partir de estos datos se pudo identificar los ácidos grasos presentes en cada muestra problema al comparar el orden de elución de los ácidos grasos.

**Cuadro 6.3.** Coeficientes de determinación ( $R^2$ ) de las curvas tipo, tiempos de retención y concentración de los estándares de ésteres de metilo de los ácidos grasos utilizados para identificar los ácidos grasos de las muestras.

Orden elución	Ácido Graso	Fórmula simple	$R^2$	Tiempo de retención mínimo	Tiempo de retención máximo	Concentración
1	Mirístico (tetradecanóico)	C14:0	0.9934	24.04	26.68	6 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
2	Miristoléico ( <i>cis</i> )	C14:1 c (n-5)	0.9929	25.64	28.01	1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
3	Palmitico (hexadecanóico)	C16:0	0.9936	27.84	30.89	16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
4	Palmitoléico ( <i>cis</i> ) (9-hexadecenoico)	C16:1 c (n-7)	0.9937	28.74	32.08	5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
5	Esteárico (octadecanóico)	C18:0	0.9944	31.79	35.49	8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
6	Oléico ( <i>cis</i> ) (9-octadecenoico)	C18:1 c (n-9)	0.9913	32.78	36.79	13 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
7	Vaccénico (trans)	C18:1 t (n-11)	0.9826	32.84	36.92	4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
8	Linoléico ( <i>cis</i> ) (9,12-octadecadienoico)	C18:2 c (n-6)	0.9939	34.04	38.57	2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
9	$\gamma$ - Linolénico ( <i>cis</i> ) (6, 9, 12-octadecatrienoico)	C18:3 c (n-6)	0.9940	34.72	40.24	2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
10	Araquídico (eicosanóico)	C20:0	0.9880	36.03	41.09	1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
11	Gadoleico ( <i>cis</i> ) (11-eicosaenoico)	C20:1 c (n-11)	0.9945	36.35	41.75	9 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
12	11,14-eicosadienoico	C20:2 c (n-6)	0.9934	37.44	43.71	1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
13	Aranquidónico ( <i>cis</i> ) (5,8,11,14-eicosatetraenoico) (ARA)	C20:4 c (n-6)	0.9899	38.62	45.51	3 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
14	Behénico (docosanóico)	C22:0	0.9787	40.45	46.50	1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
15	11,14,17-Eicosatrienoico ( <i>cis</i> )	C20:3 c (n-3)	0.9785	40.80	46.74	1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
16	Erúico ( <i>cis</i> ) (13-docosaenoico)	C22:1 c (n-9)	0.9979	40.91	47.07	3 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
17	5,8,11,14,17-Eicosapentaenoico ( <i>cis</i> ) (EPA)	C20:5 c (n-3)	0.9929	43.47	50.17	10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
18	Lignocérico (tetracosanóico)	C24:0	0.9842	44.96	51.39	1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
19	Nervónico ( <i>cis</i> ) (15-tetracosanoico)	C24:1 c (n-9)	0.9852	45.60	53.24	1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
20	4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoico ( <i>cis</i> ) (DHA)	C22:6 c (n-3)	0.9845	50.12	59.50	12 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$

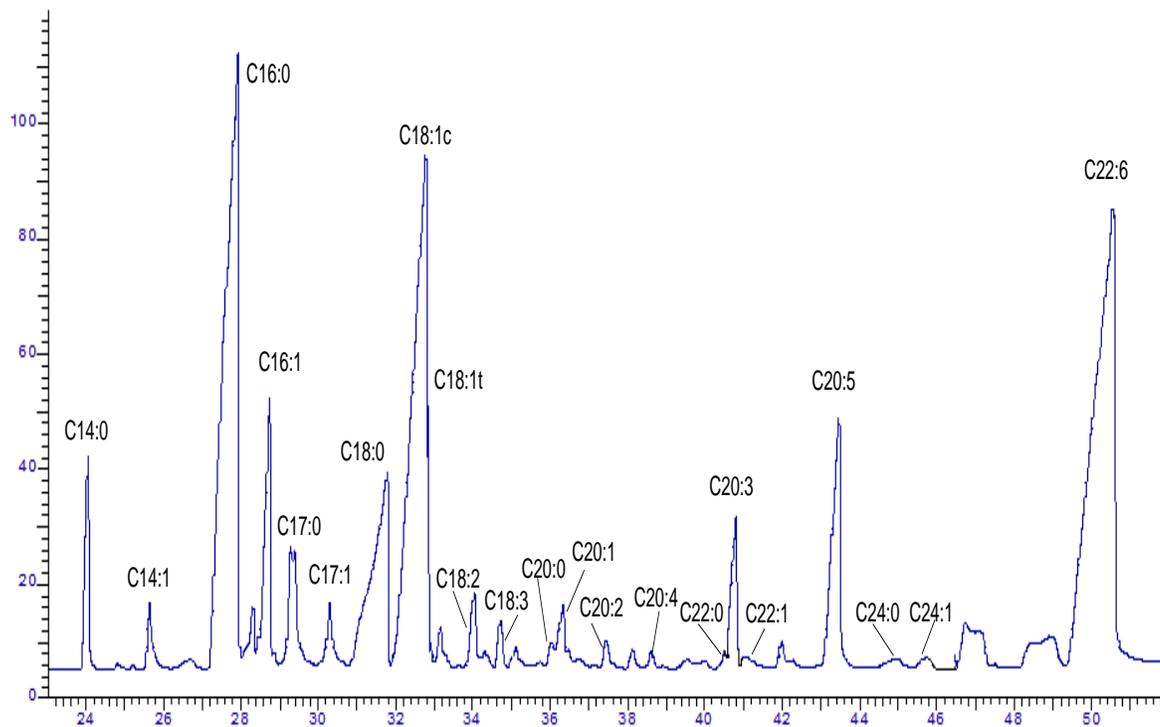


**Figura 6.6.** Cromatograma de la mezcla de estándares de ácidos grasos de origen marino (Restek 35066).

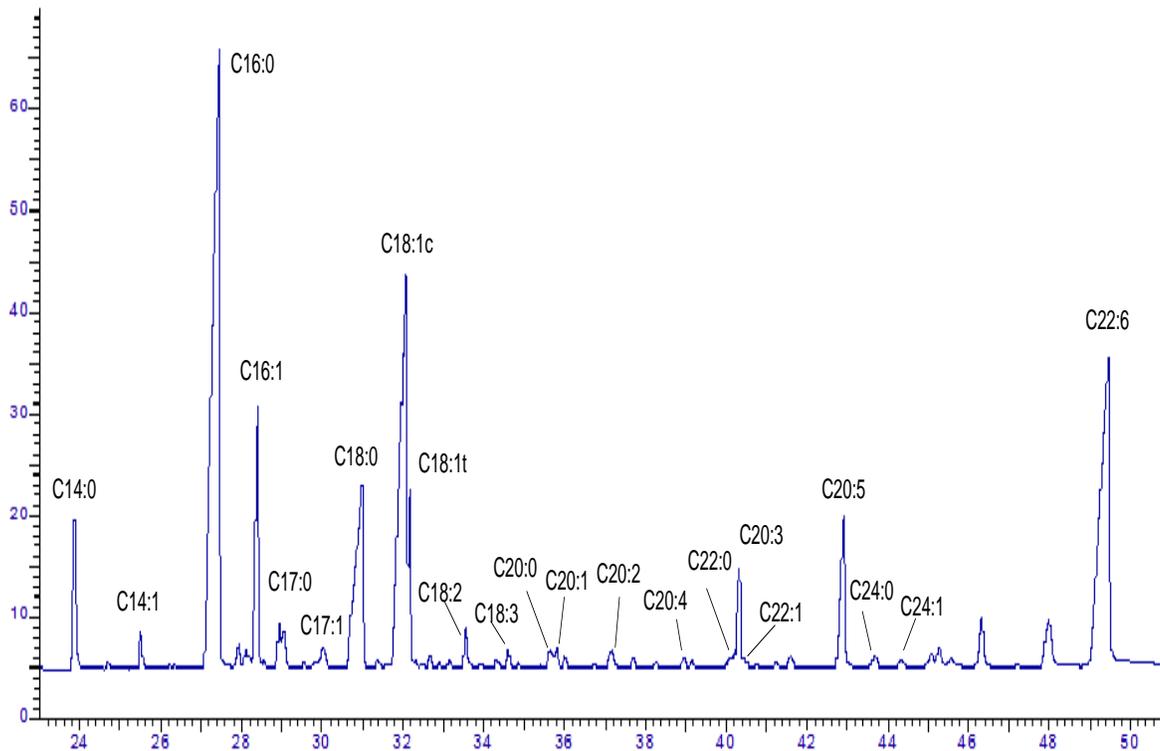
Los límites de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) estimados para los los FAME individuales determinados por cromatografía de gases, estuvieron entre 0.093 – 1.669 mg / mL, y entre 0.309 – 5.565 mg / mL, respectivamente. El LOD de un analito se puede describir como aquella concentración que proporciona una señal en el instrumento (y) significativamente diferente de la señal del blanco o ruido de fondo. El LOQ es el límite inferior para medidas cuantitativas precisas (Miller & Miller, 2002).

### 6.3.2 Perfil de ácidos grasos de las muestras de pescado

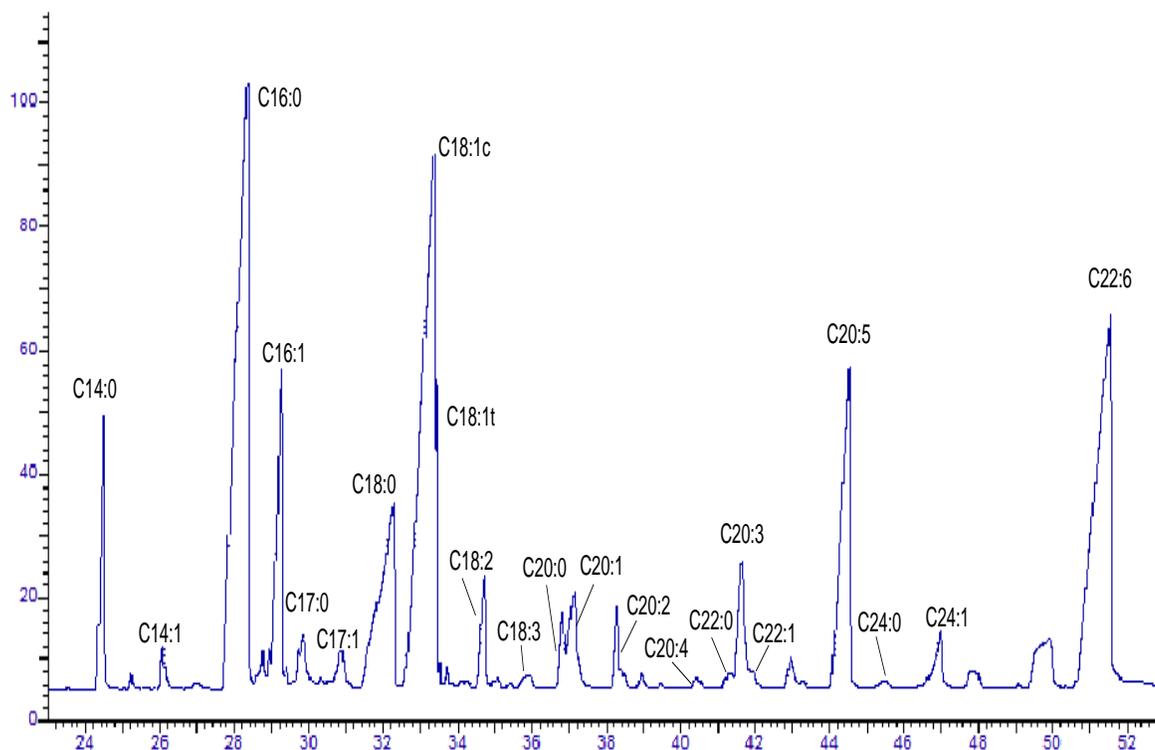
Las Figuras 6.7 a 6.9 muestran los cromatogramas de las muestras de atún aleta azul, jurel y sierra. Se observó que en las muestras se presentaban los mismos ácidos grasos, pero en distintas proporciones; se lograron identificar 20 ácidos grasos distintos.



**Figura 6.7.** Cromatograma de muestra de atún aleta azul (otoño).



**Figura 6.8.** Cromatograma de muestra de jurel (otoño).



**Figura 6.9.** Cromatograma de muestra de sierra (verano).

El Cuadro 6.6 muestra el perfil de ácidos grasos (AG) de filetes de pescado de atún aleta azul, jurel y sierra, también se comparan el contenido de ácidos grasos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA), poliinsaturados (PUFA) e índices de calidad nutricional (en mg / 100 g de filete) para las tres especies en las tres épocas del año.

Los SFA son la suma de C14:0, C16:0, C18:0, C20:0, C22:0, y C24:0; los MUFA son la suma de C14:1 n-5, C16:1 n-7, C18:1 (n-9 y n-7), C20:1 n-9, C22:1 n-9, y C24:1 n-9; y los PUFA son la suma de C18:2 n-6, C18:3 n-3, C20:2 n-6, C20:3 n-3, C20:4 n-6, C20:5 n-3 (EPA) y C22:6 n-3 (DHA).

Se observaron variaciones en el contenido de AG entre las especies en función del contenido de grasa, por ejemplo la sierra es la especie con mayor contenido de PUFA, seguida por el atún aleta azul y luego el jurel, dado que el contenido de grasa es mayor en la especie sierra. Para hacer un mejor análisis de los ácidos grasos, se compararon las especies de acuerdo al porcentaje de ácidos

grasos presentes en toda la muestra. El atún es la especie con mayor porcentaje de PUFA (47.41% respecto el total de ácidos grasos), el jurel la especie con mayor contenido de SFA (41.84 %), y la sierra con mayor contenido de MUFA (33.49 %).

De el Cuadro 6.4, se observa que los AG más abundantes identificados en las especies de pescado fueron: C16:0 (palmítico), C22:6 n-6 (docosahexaenólico, DHA), C18:1 n-9 (oléico), C18:0 (esteárico), C20:5 n-3 (eicosapentaenólico, EPA), C16:1 (palmitoléico), y C20:3 n-3 (eicosatrienólico), éstos representan del 87 al 95% de los ácidos grasos totales. Por esta razón, en la Figura 6.10 se muestran, en unidades de por ciento de ácidos grasos, los ácidos grasos más abundantes (7 en total) y en la Figura 6.11 los ácidos grasos menos abundantes (13 en total). Los ácidos grasos más abundantes tuvieron una concentración promedio mayor a 147.59 mg/100 g de filete.

En la Figura 6.10 se puede apreciar que el atún tiene un mayor porcentaje del ácido graso DHA (C22:6 n-6); la sierra de AG oléico (C18:1c); y el jurel el mayor porcentaje de AG palmítico (C16:0), con excepción del otoño donde la sierra tiene un mayor contenido de éste AG. En cuanto al porcentaje de AG omega-3, el atún tiene el mayor porcentaje en invierno y verano, y el jurel y la sierra tienen un mayor porcentaje en el verano; las mayores variaciones de AG omega-3, en las tres épocas del año, se presentaron para atún y sierra. Como se puede observar, en general, existe una variación de la composición de ácidos grasos en las tres especies en función de la época del año.

El Cuadro 6.5 presenta los descriptores estadísticos (valor promedio, valores máximos y mínimos, desviación estándar y coeficiente de variación) de los índices nutricionales y el perfil de ácidos grasos (en mg / 100 g de filete) de las 102 muestras de atún aleta azul, jurel y sierra analizadas en conjunto. También se presenta en este mismo cuadro los valores de LOD y LOQ de cada ácido graso individual.

**Cuadro 6.4.** Perfil de ácidos grasos promedio de atún aleta azul, jurel y sierra en tres épocas de año.

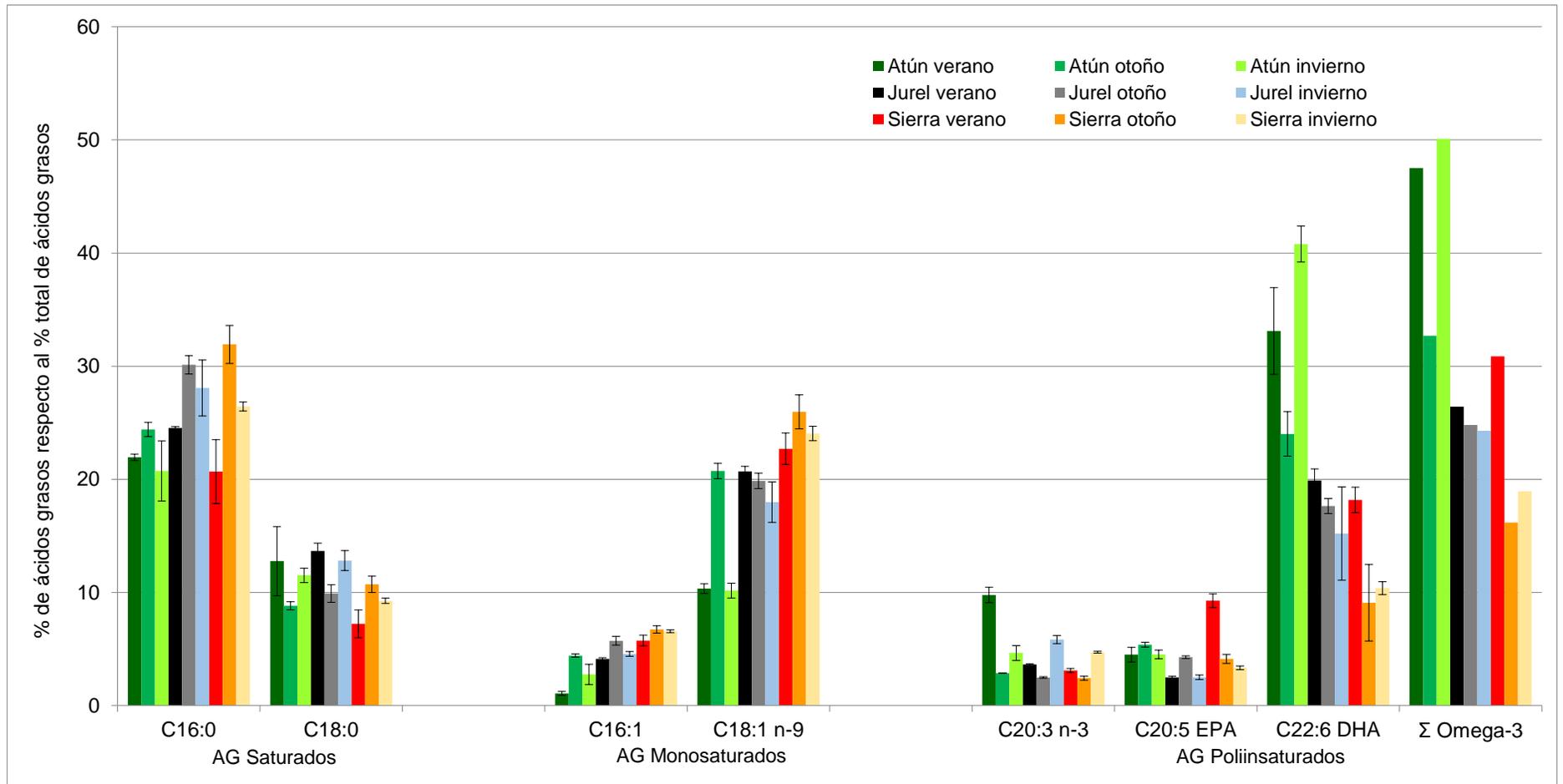
Ácidos grasos (mg / 100 g filete)	Atún aleta azul			Jurel			Sierra		
	Verano	Otoño	Invierno	Verano	Otoño	Invierno	Verano	Otoño	Invierno
C14:0	65.74 (±9.58)	72.97 (±20.02)	40.59 (±35.01)	81.72 (±9.88)	111.52 (±32.85)	99.27 (±57.65)	260.72 (±25.79)	232.63 (±67.79)	215.90 (±29.11)
C16:0	996.77 (±145.26)	714.04 (±195.92)	434.54 (±136.97)	783.76 (±94.75)	1119.06 (±284.58)	719.26 (±383.58)	1465.08 (±144.72)	2074.68 (±604.59)	1386.28 (±357.01)
C18:0	563.17 (±82.07)	263.57 (±72.32)	224.82 (±52.54)	438.22 (±52.98)	381.19 (±96.26)	314.34 (±159.79)	523.08 (±51.67)	752.48 (±219.28)	506.16 (±109.25)
C20:0	19.35 (±2.82)	15.60 (±4.28)	10.87 (±6.86)	12.01 (±1.45)	7.25 (±2.27)	20.76 (±10.54)	66.54 (±6.57)	28.46 (±8.29)	84.13 (±14.78)
C22:0	8.62 (±1.26)	2.07 (±0.57)	5.31 (±2.39)	3.01 (±0.36)	3.18 (±1.06)	10.31 (±5.72)	6.80 (±0.67)	5.72 (±1.67)	19.28 (±3.42)
C24:0	18.85 (±2.75)	9.55 (±2.62)	6.65 (±1.99)	12.65 (±1.53)	16.75 (±4.78)	16.43 (±8.34)	8.75 (±0.86)	19.85 (±5.78)	19.95 (±8.15)
<b>Σ SFA<sup>f</sup></b>	1672.50 <sup>cd</sup>	1077.81 <sup>de</sup>	722.78 <sup>e</sup>	1331.36 <sup>d</sup>	1638.96 <sup>bcd</sup>	1180.39 <sup>de</sup>	2330.97 <sup>b</sup>	3113.81 <sup>a</sup>	2231.71 <sup>bc</sup>
C14:1	16.84 (±2.45)	31.43 (±8.62)	12.24 (±5.88)	58.67 (±7.09)	26.06 (±6.64)	21.49 (±11.21)	43.70 (±4.32)	37.90 (±11.04)	36.00 (±6.72)
C16:1 n-7	79.04 (±11.52)	125.41 (±34.41)	80.78 (±34.48)	138.15 (±16.70)	219.79 (±55.26)	145.19 (±87.02)	414.25 (±40.92)	496.35 (±144.64)	338.15 (±45.30)
C18:1 n-9	505.15 (±73.61)	533.34 (±146.34)	225.79 (±78.79)	583.61 (±70.56)	660.41 (±168.30)	462.73 (±249.30)	1396.12 (±137.91)	1703.44 (±496.41)	1167.03 (±293.35)
C18:1 n-7	65.88 (±9.60)	50.16 (±13.76)	29.10 (±6.67)	90.15 (±10.90)	118.28 (±35.55)	63.75 (±48.01)	197.46 (±19.51)	138.89 (±40.54)	88.36 (±6.25)
C20:1 n-9	67.77 (±9.88)	19.43 (±5.33)	24.62 (±12.41)	22.49 (±2.72)	34.60 (±9.81)	53.73 (±29.84)	114.97 (±11.36)	50.22 (±14.64)	99.73 (±16.39)
C22:1	17.63 (±2.57)	15.17 (±4.16)	21.84 (±10.44)	7.43 (±0.90)	18.54 (±5.42)	17.63 (±13.20)	22.77 (±2.25)	19.57 (±5.70)	45.63 (±7.39)
C24:1	34.35 (±5.01)	31.23 (±8.57)	9.98 (±2.92)	45.27 (±5.47)	27.27 (±8.25)	31.26 (±15.87)	60.56 (±5.98)	62.93 (±18.34)	59.83 (±8.18)
<b>Σ MUFA<sup>g</sup></b>	786.65 <sup>cd</sup>	806.18 <sup>cd</sup>	404.36 <sup>d</sup>	945.77 <sup>c</sup>	1104.94 <sup>c</sup>	795.78 <sup>cd</sup>	2249.83 <sup>ab</sup>	2509.02 <sup>a</sup>	1935.96 <sup>b</sup>

**Cuadro 6.4. Continuación.**

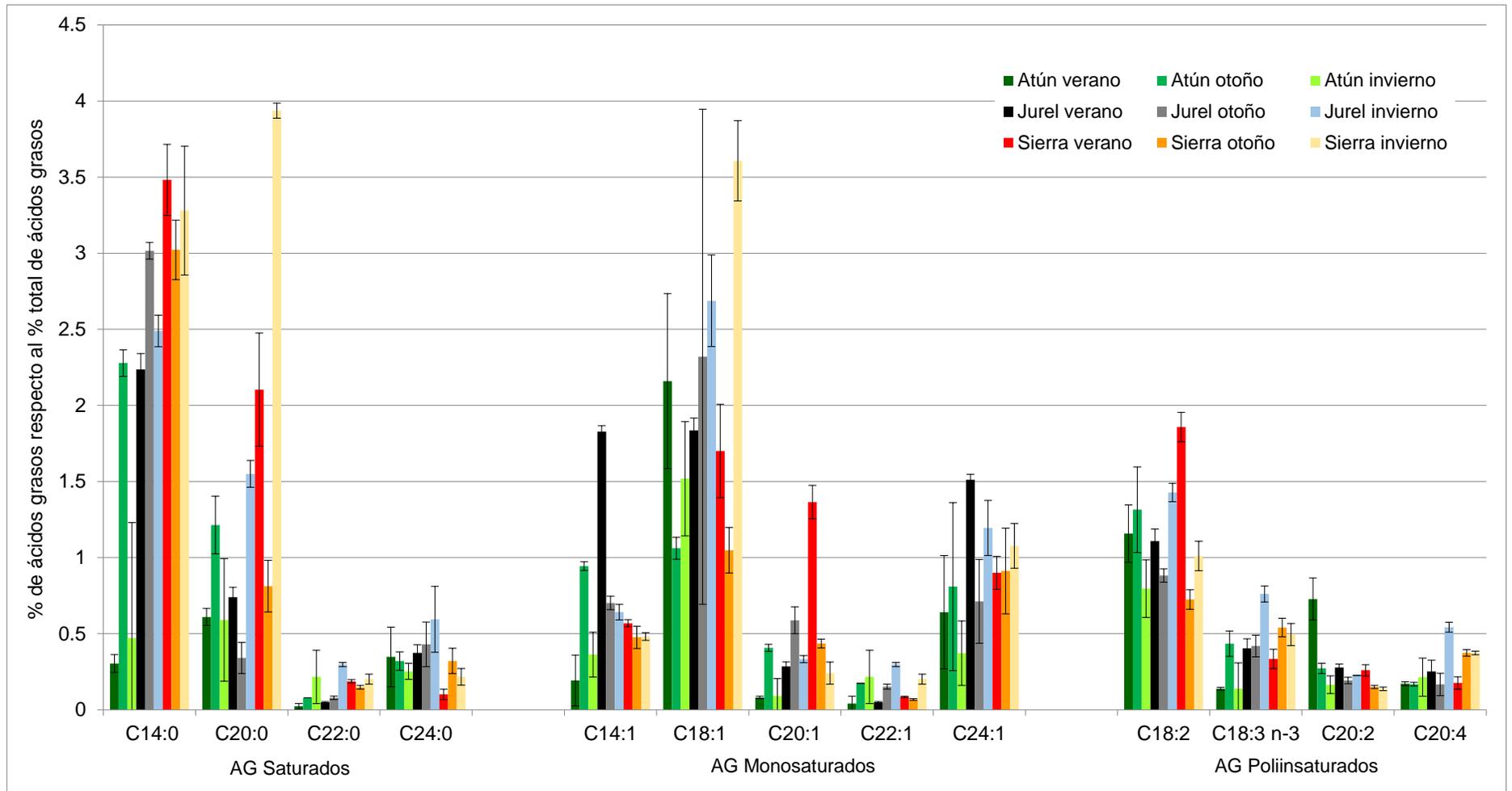
Ácidos grasos (mg / 100 g filete)	Atún aleta azul			Jurel			Sierra		
	Verano	Otoño	Invierno	Verano	Otoño	Invierno	Verano	Otoño	Invierno
C18:2 n-6	61.22 (±8.92)	39.63 (±10.87)	22.18 (±9.93)	37.40 (±4.52)	34.78 (±8.75)	39.23 (±20.02)	131.99 (±13.04)	57.30 (±16.701)	64.66 (±8.76)
C18:3 n-3	27.68 (±4.03)	24.56 (±6.74)	14.26 (±9.35)	26.96 (±3.26)	32.43 (±8.37)	42.08 (±21.34)	49.40 (±4.88)	77.18 (±22.49)	66.70 (±10.89)
C20:2 n-6	36.41 (±5.31)	8.52 (±2.34)	6.24 (±2.62)	10.14 (±1.23)	8.42 (±2.22)	10.35 (±5.34)	20.39 (±2.01)	13.01 (±3.79)	18.53 (±4.01)
C20:3 n-3	349.67 (±50.96)	74.37 (±20.41)	71.81 (±16.38)	99.60 (±12.04)	79.05 (±19.88)	103.99 (±57.66)	187.84 (±18.55)	156.56 (±45.62)	177.17 (±37.48)
C20:4 n-6	42.84 (±6.24)	16.96 (±4.65)	19.19 (±6.44)	27.63 (±3.34)	20.57 (±5.98)	50.46 (±26.06)	42.73 (±4.22)	81.99 (±23.89)	79.64 (±10.79)
C20:5 n-3 (EPA) <sup>h</sup>	266.23 (±38.80)	170.41 (±46.76)	125.70 (±51.39)	95.93 (±11.60)	170.72 (±42.85)	105.42 (±57.93)	676.00 (±66.78)	334.55 (±97.49)	264.33 (±37.07)
C22:6 n-3 (DHA) <sup>i</sup>	1646.78 (±239.98)	869.65 (±238.61)	815.86 (±196.50)	743.08 (±89.84)	745.73 (±186.84)	425.85 (±216.28)	1493.56 (±147.54)	963.44 (±280.76)	690.13 (±195.38)
<b>Σ PUFA<sup>j</sup></b>	2430.84 <sup>a</sup>	1204.09 <sup>bcd</sup>	1075.24 <sup>cd</sup>	1040.73 <sup>cd</sup>	1091.70 <sup>cd</sup>	777.39 <sup>d</sup>	2601.90 <sup>a</sup>	1684.02 <sup>b</sup>	1361.15 <sup>bc</sup>
<b>Índices de calidad nutricional</b>									
g omega-3 /100 g <sup>k</sup>	2.29 <sup>a</sup>	1.14 <sup>bc</sup>	1.03 <sup>cd</sup>	0.97 <sup>cd</sup>	1.03 <sup>cd</sup>	0.68 <sup>d</sup>	2.41 <sup>a</sup>	1.53 <sup>b</sup>	1.20 <sup>bc</sup>
% FLQ <sup>l</sup>	39.12 <sup>b</sup>	33.68 <sup>c</sup>	43.47 <sup>a</sup>	25.29 <sup>d</sup>	23.91 <sup>d</sup>	19.45 <sup>e</sup>	30.21 <sup>c</sup>	17.76 <sup>e</sup>	17.21 <sup>e</sup>
IA <sup>m</sup>	0.39 <sup>c</sup>	0.50 <sup>b</sup>	0.39 <sup>c</sup>	0.56 <sup>b</sup>	0.71 <sup>a</sup>	0.70 <sup>a</sup>	0.52 <sup>b</sup>	0.72 <sup>a</sup>	0.68 <sup>a</sup>
IT <sup>n</sup>	0.25 <sup>f</sup>	0.29 <sup>e</sup>	0.22 <sup>g</sup>	0.41 <sup>d</sup>	0.46 <sup>c</sup>	0.51 <sup>b</sup>	0.28 <sup>c</sup>	0.55 <sup>a</sup>	0.50 <sup>b</sup>
HH <sup>o</sup>	2.40 <sup>b</sup>	2.10 <sup>c</sup>	2.70 <sup>a</sup>	1.75 <sup>d</sup>	1.35 <sup>e</sup>	1.39 <sup>e</sup>	2.20 <sup>bc</sup>	1.39 <sup>e</sup>	1.46 <sup>e</sup>

<sup>f</sup> SFA, ácidos grasos saturados. <sup>g</sup> MUFA, ácidos grasos monoinsaturados. <sup>h</sup> EPA, ácido eicosapentaenóico (C20:5 n-3). <sup>i</sup> DHA, ácido docosahexaenóico (C22:6 n-3). <sup>j</sup> PUFA, ácidos grasos poliinsaturados. <sup>k</sup> Omega-3/100 g filete = gramos de (C22:6n-3+C20:5n-3+C18:3n-3+C20:3n-3)/100 gramos de filete. <sup>l</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado, <sup>m</sup> IA, Índice de aterogenicidad. <sup>n</sup> IT, Índice de trombogénicidad. <sup>o</sup> HH, Relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos.

Los valores expresan el promedio de tres determinaciones (± desviación estándar). Los promedios seguidos por diferente letra (a-e) dentro de la misma fila son significativamente diferentes (p<0.05).



**Figura 6.10.** Porcentaje de ácidos grasos más abundantes presentes en filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. Los resultados representan el promedio de 3 determinaciones  $\pm$  desviación estándar.



**Figura 6.11.** Porcentaje de ácidos grasos más abundantes presentes en filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. Los resultados representan el promedio de 3 determinaciones  $\pm$  desviación estándar.

**Cuadro 6.5.** Descriptores estadísticos para 20 ácidos grasos individuales, grupos de ácidos grasos e índices nutricionales de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra.

Parámetro	Promedio	SD <sup>a</sup>	Máximo	Mínimo	CV (%) <sup>b</sup>	LOD <sup>c</sup>	LOQ <sup>d</sup>
<b>Índices nutricionales</b>							
Omega-3/100 g pescado <sup>e</sup>	1.34	0.65	2.77	0.30	48.24	-	-
FLQ (%) <sup>f</sup>	28.24	9.84	46.62	16.44	34.84	-	-
IA <sup>g</sup>	0.57	0.14	0.80	0.33	24.59	-	-
IT <sup>h</sup>	0.38	0.13	0.58	0.20	32.81	-	-
HH <sup>i</sup>	1.90	0.53	2.97	1.21	28.04	-	-
<b>Ácidos grasos (mg/ 100 g de filete)</b>							
SFA <sup>j</sup>	1645.75	837.27	4172.42	415.42	50.87	-	-
MUFA <sup>k</sup>	1226.83	794.36	3362.03	219.85	64.75	-	-
PUFA <sup>l</sup>	1455.86	691.05	2937.56	341.19	47.47	-	-
EPA <sup>m</sup> + DHA <sup>n</sup>	1157.02	569.56	2431.22	230.00	49.23	-	-
C14:0	126.54	86.13	311.71	13.68	68.07	0.559	1.862
C14:1 n-5	30.33	16.09	71.36	6.03	53.07	0.096	0.320
C16:0	1033.49	560.08	2780.02	248.00	54.19	1.466	4.886
C16:1 n-7	215.26	157.79	665.09	41.70	73.30	0.453	1.509
C18:0	434.24	192.51	1008.31	135.28	44.33	0.684	2.280
C18:1 n-7	99.81	73.12	528.05	18.76	73.26	0.607	2.023
C18:1 n-9	766.37	522.67	2282.57	124.87	68.20	1.389	4.629
C18:2 n-6	53.17	32.40	147.91	11.25	60.95	0.179	0.597
C18:3 n-3	39.59	23.31	103.41	5.98	58.88	0.177	0.590
C20:0	29.56	26.38	105.87	4.55	89.25	0.125	0.418
C20:1 n-9	54.93	35.06	128.84	11.04	63.81	0.761	2.538
C20:2 n-6	14.90	9.87	44.00	3.24	66.26	0.093	0.309
C20:3 n-3	147.59	93.23	422.56	29.52	63.17	0.169	0.563
C20:4 n-6	43.59	26.29	109.86	9.63	60.31	0.336	1.120
C20:5 n-3 (EPA <sup>m</sup> )	236.57	176.63	757.53	41.85	74.66	1.137	3.792
C22:0	7.65	5.58	24.28	1.18	72.94	1.008	3.362
C22:1 n-9	20.91	12.24	59.10	5.81	58.52	0.143	0.476
C22:6 n-3 (DHA <sup>n</sup> )	920.46	434.48	1990.07	188.15	47.20	1.669	5.565
C24:0	14.27	6.92	43.48	3.85	48.50	0.140	0.468
C24:1 n-9	39.22	20.21	84.33	5.83	51.55	0.136	0.453

<sup>a</sup> SD, desviación estándar. <sup>b</sup> CV, coeficiente de variación (SD \* 100/promedio). <sup>c</sup> LOD, límite de detección. <sup>d</sup> LOQ, límite de cuantificación. <sup>e</sup> Omega-3/100 g filete = gramos de (C22:6n-3+C20:5n-3+C20:3n-3+C18:3n-3)/100 gramos de filete. <sup>f</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado. <sup>g</sup> IA, Índice de aterogenicidad. <sup>h</sup> IT, Índice de trombogénicidad. <sup>i</sup> HH, Relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos. <sup>j</sup> SFA, ácidos grasos saturados, <sup>k</sup>MUFA, ácidos grasos monoinsaturados, <sup>l</sup>PUFA, ácidos grasos poliinsaturados, <sup>m</sup>EPA, ácido eicosapentaenóico (C20:5 n-3), <sup>n</sup>DHA, ácido docosahexaenóico (C22:6 n-3).

Comparando los resultados del contenido de ácidos grasos obtenidos en el presente trabajo con los de otras referencias mexicanas e internacionales (Cuadro 6.6), se observan algunas discrepancias, que se pueden explicar con lo reportado por Gram & Huss (2000) que afirman que la composición química del pescado es variable, ya que depende de factores como la talla, alimentación, madurez sexual, nado migratorio, entre otras.

**Cuadro 6.6.** Contenido de ácidos grasos promedio de atún aleta azul, jurel y sierra, y su comparación con lo reportado en otras referencias.

Parámetro (mg /100 g filete)	Atún aleta azul			Atún aleta amarilla	
	Presente trabajo	Garaffo <i>et al.</i> , 2011	Sprague <i>et al.</i> , 2012	Castro- González <i>et al.</i> , 2007	Muñoz <i>et al.</i> , 2010 *
Grasa total (%)	3.32 (±1.44)	5.56 (±0.41)	8.0 (±2.2)	1.20 (±0.01)	7.40- 15.70
SFA	1131.07 (±489)	1878.7 (±153)	2552 (±168)	104.59	1632
MUFA	622.01 (±247)	1128.7 (±258)	3512 (±240)	65.79	1566
PUFA	1580.21 (±704)	2052.2 (±149)	1936 (±152)	225.02	561
Omega-3	1496.20 (±660)	1835.9 (±128)	1656 (±128)	170.04	3474

\*Atún enlatado, en aceite, sin drenar.

Parámetro (mg /100 g filete)	Jurel		Sierra			
	Presente trabajo	Castro- González <i>et al.</i> , 2004	Presente trabajo	Murillo <i>et al.</i> , 2014	Castro- González <i>et al.</i> , 2004	Muñoz <i>et al.</i> , 2010
Grasa total	3.25 (±1.11)	2.52 (±0.25)	6.60 (±1.65)	3.09 (±0.23)	4.60 (±0.22)	13.90
SFA	1318.27 (±488)	99.34	2548.28 (±707)	1206.93 (±61.10)	438.22	3600
MUFA	905.31 (±347)	69.61	2222.07 (±547)	1007.20 (±115.10)	257.05	5400
PUFA	926.85 (±328)	127.12	1865.54 (±630)	868.09 (±185.16)	650.72	3700
Omega-3	842.20 (±310)	123.58	1695.70 (±600)	663.00 (±80.0)	611.06	2600

En las tablas de valor nutritivo de alimentos consumidos en México (Muñoz *et al.*, 2010; Bourges *et al.*, 1996), sólo se indica el total de ácidos grasos saturados, el contenido de ácido oléico como el principal ácido graso monoinsaturado y el contenido del ácido linoléico como el principal ácido graso poliinsaturados. De hecho, en México hay poca información en relación con el perfil de ácidos grasos en el pescado crudo (Castro-González *et al.*, 2007; Castro-González *et al.*, 2004; Castro *et al.*, 2001a, 2001b). En la literatura internacional (Prato & Biandolino, 2012; Pirini *et al.*, 2010; Senso *et al.*, 2007; Cakli *et al.*, 2007; Goulas & Kontominas, 2007; Grigorakis, 2007; Nasopoulou *et al.*, 2007; Rodríguez *et al.*, 2005; Xiccato *et al.*, 2004), si bien hay información muy extensa sobre el perfil de ácidos grasos de muchas especies, estas raramente se consumen o tienen poco interés económico en México (Silencio-Barrita, 2003); sólo se encontró información sobre el contenido de grasa y ácidos grasos de atún aleta azul, pero no la composición química, ni ácidos grasos de jurel o sierra.

Esto corrobora la necesidad de contar con métodos de análisis rápidos y confiables para poder conocer de manera exacta la composición química del pescado, y no sólo confiar en los valores promedio de las tablas de composición de alimentos.

#### **6.4 índices nutricionales**

Como se ha mencionado en la sección de antecedentes, el consumo de pescado ofrece un efecto protector contra enfermedades cardiovasculares, esto debido a su contenido de PUFA, en especial de AG omega-3, en comparación con otras fuentes de proteína como lácteos, cárnicos y huevo. En general, los alimentos que promueven y protegen contra la aparición de enfermedades del corazón están directamente relacionados con la cantidad de SFA, MUFA y PUFA n-3 y PUFA n-6. Para intentar resumir estos numerosos efectos de los AG, se han planteado en la literatura diferentes índices de calidad nutricional, y en el presente trabajo se calcularon 5, cabe señalar que en las referencias mexicanas no existe información sobre estos índices en los alimentos.

En el Cuadro 6.7 se presenta la comparación de los índices de aterogenicidad (IA), trombogenicidad (IT), la relación de AG hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos (HH), porcentaje de AG omega-3 y el índice de la calidad de los lípidos del pescado (% FLQ) obtenidos en el presente trabajo, así como los índices que se reportan para otras especies de pescado y para comparación, también se incluyen estos índices para la carne de res, oveja y cerdo.

Los índices IA y IT, indican el potencial de obstrucción o crear trombos en las arterias, respectivamente, por lo que los bajos valores de ambos índices se refieren a la reducción del riesgo potencial para desarrollar enfermedades cardiovasculares. Los valores de HH, % AG omega-3 y % FLQ se espera que sean los más altos posibles, pues indican una mayor calidad de los lípidos.

Los valores de IA y IT fueron bajos para atún aleta azul y mayores para jurel y sierra, en comparación con otras especies de pescado con IA o IT de 0.2; pero mucho menores a los de la carne de res u oveja con valores de IA > 0.71 o de IT > 1.38. El contenido de omega-3, en porcentaje de ácidos grasos, fue alto para atún (43.4 % o 1.44 g /100 g) e intermedio para jurel y sierra (21.9-25.2 %), aunque considerando el contenido de grasa, el contenido de AG omega-3 en g / 100 g de filete de jurel y sierra en realidad no es tan bajo (0.82-1.44 g /100 g) en comparación con otras especies (0.24-3.35 g /100 g). Como se observa no todas las especies de pescado ofrecen los mismos beneficios, por lo que sería importante tener en cuenta estos índices si se desea incrementar el efecto benéfico que tiene a la salud el consumo de pescado.

**Cuadro 6.7.** Índices nutricionales de las especies analizadas en el presente trabajo y los reportados para otros alimentos.

Especie	Grasa (%)	IA <sup>a</sup>	IT <sup>b</sup>	HH <sup>c</sup>	%FLQ <sup>d</sup>	Omega-3 (%) <sup>e</sup>	Referencia
Atún aleta azul ( <i>Thunnus thinnus</i> )	3.32	0.41	0.23	2.47	39.92	43.4	Presente trabajo
Jurel ( <i>Caranx hippos</i> )	3.25	0.66	0.43	1.51	22.29	25.2	Presente trabajo
Sierra ( <i>S. maculatus</i> )	6.60	0.64	0.41	1.67	21.58	21.9	Presente trabajo

**Cuadro 6.7. Continuación.**

Especie	Grasa (%)	IA <sup>a</sup>	IT <sup>b</sup>	HH <sup>c</sup>	%FLQ <sup>d</sup>	Omega-3 (%) <sup>e</sup>	Referencia
Pulpo ( <i>Palinurus vulgaris</i> )	--	0.73	0.24	1.52	--	39.2	Valfré <i>et al.</i> , 2003
Pargo ( <i>Pagrus pagrus</i> )	0.65	0.4	0.2	--	--	36.7	Rueda <i>et al.</i> , 1997
Atún aleta azul ( <i>Thunnus thynnus</i> )	5.56	0.69	0.27	--	--	33.02	Garaffo <i>et al.</i> , 2011
Dorada acuicultura ( <i>Sparus aurata</i> )	2.5-3.5	0.21-0.29	0.14 - 0.19	--	19.35-31.27	29.5	Senso <i>et al.</i> , 2007
Dentón ( <i>Dentex dentex</i> )	7.88	0.92	0.25	--	23.07	27.88	Suárez & Rincón, 2010
Trucha arcoiris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	--	0.57	0.37	2.29	--	27.3	Valfré <i>et al.</i> , 2003
Corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> )	12.9	0.46	0.23	2.36	--	26.0	Martelli <i>et al.</i> , 2013
Picudo ( <i>Diplodus puntazo</i> )	13.9	0.33	0.22	--	--	23.3	Piccolo <i>et al.</i> , 2008
Lubina ( <i>Dicentrarchus labrax</i> )	3.7	0.513	0.325	--	--	20.8	Grigorakis, 2007
Dorada ( <i>Sparus aurata</i> )	2.5	0.577	0.357	--	--	19.6	Grigorakis, 2007
Carpa ( <i>Cyprinus carpio</i> )	12.15	0.65	0.36	--	6.84	15.67	Stancheva <i>et al.</i> , 2014
Siluro Bagre ( <i>Sillurus glanis</i> )	4.17	0.36	0.41	--	8.02	9.83	Stancheva <i>et al.</i> , 2014
Pescado molido ( <i>Cynoscion spp.</i> )	16.1 g / 100 g	0.19	0.36	5.85	--	2.2 g / 100 g	Soriano <i>et al.</i> , 2011
Res	--	0.71	1.38	1.47	--	1.57	Higgs, 2000
Oveja	--	0.76	1.44	1.50	--	2.49	Higgs, 2000
Cerdo	--	0.48	1.03	2.10	--	2.40	Higgs, 2000

<sup>a</sup> IA, Índice de aterogenicidad. <sup>b</sup> IT, Índice de trombogenicidad. <sup>c</sup> HH, Relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos. <sup>d</sup> % FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado, <sup>e</sup> Omega-3 = gramos de (C22:6n-3 +C20:5n-3 +C20:3n-3 +C18:3 n-3) /100 g de ácidos grasos. Los valores de IA, IT, HH y % FLQ fueron calculados en % de ácidos grasos base seca.

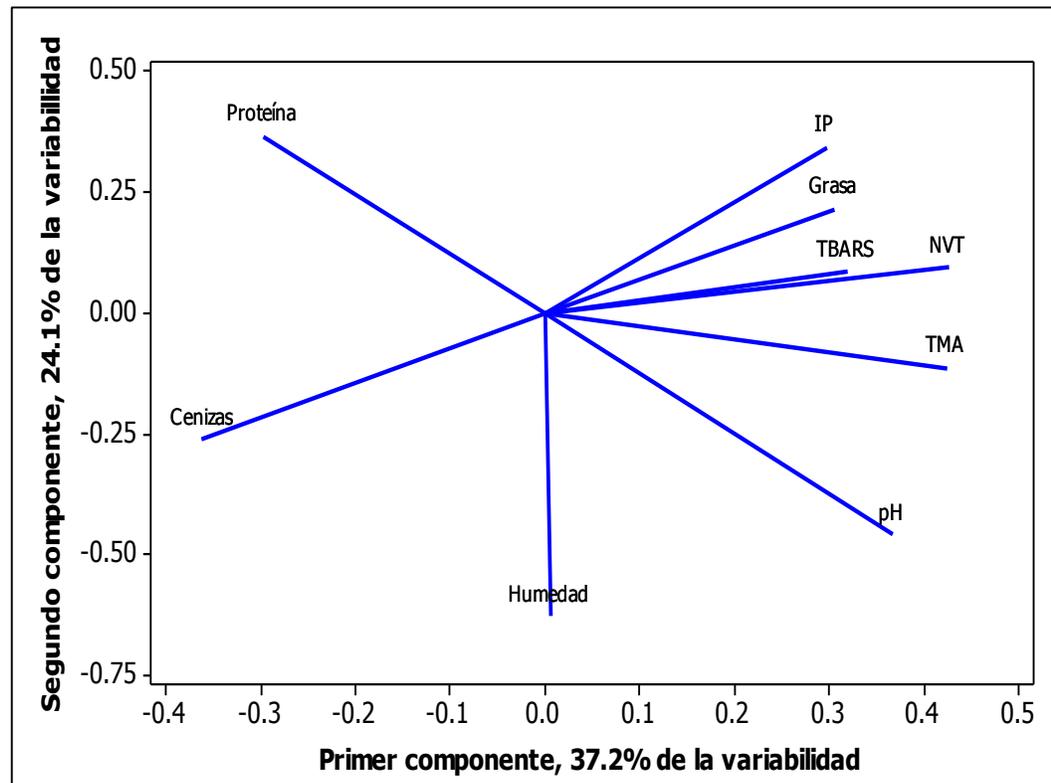
## **6.5 Análisis de componentes principales**

El análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) es un método multivariante que permite el análisis simultáneo de diferentes variables para conocer como se relacionan entre sí. A través del PCA se obtienen componentes principales (PC), que son nuevas variables independientes que describen la mayor parte de la variabilidad de las variables originales, pero en un espacio de dimensiones más pequeñas. Cada uno de estos PC es el resultado de una combinación lineal de las variables en donde cada una tiene una ponderación o carga diferente, el significado de cada componente dependerá de la magnitud de la carga (“loading”) y de su signo. Los PC con cargas más elevadas, en términos absolutos, indican una mayor influencia de las variables que describen en dicho componente. El signo de la carga indica como se relaciona una variable (crece o disminuye) respecto a otras que también son descritas por el PC.

El PCA se llevó a cabo con el fin de asegurar que hay diferencia significativa entre los datos de los 9 lotes de pescado. Se realizaron dos análisis PCA, uno para el conjunto de datos de composición química, pH e índices de deterioro y otro para los ácidos grasos y grupos de ácidos grasos.

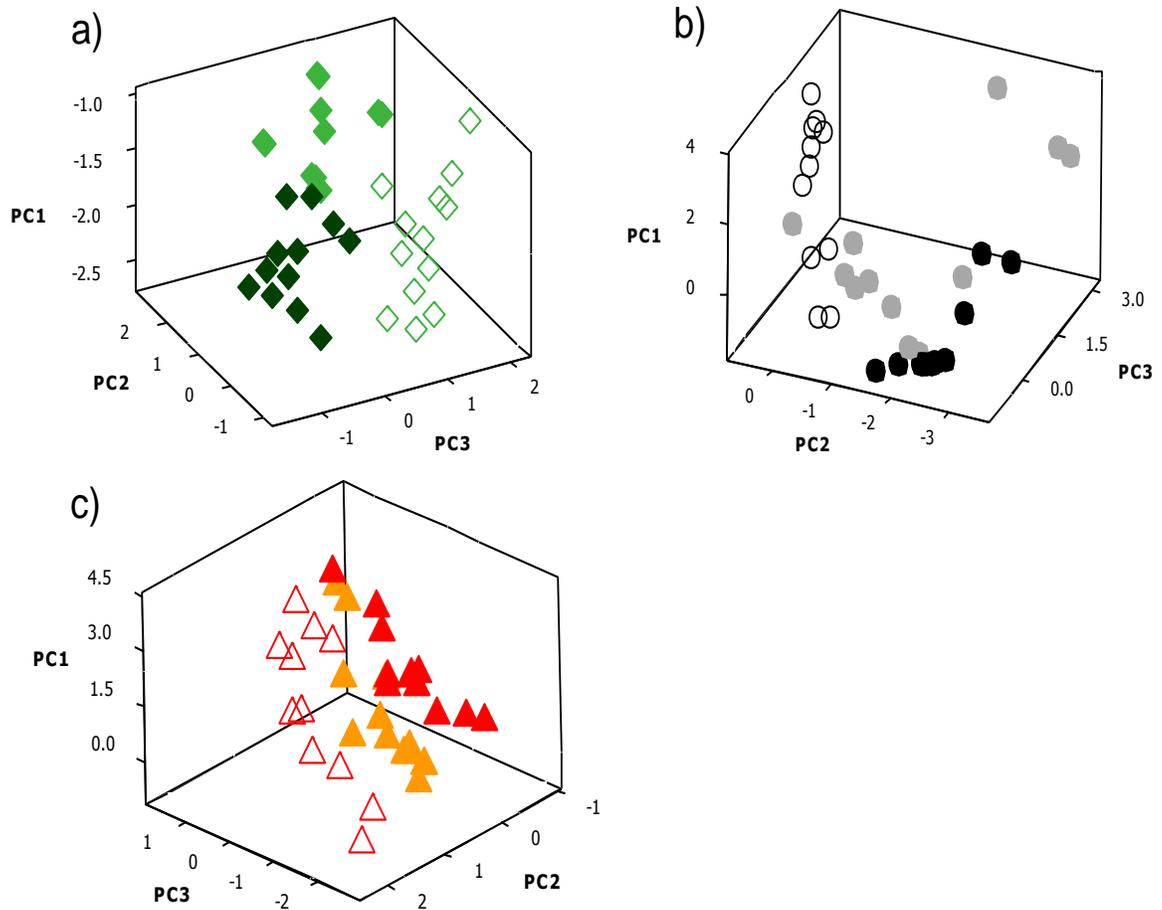
El PCA de los datos analíticos de composición química, pH e índices de deterioro fue interpretado mediante la gráfica de cargas (Figura 6.12) y las gráficas de puntuaciones (Figura 6.13). El PCA mostró que los componentes principales (PC) más significativos fueron los primeros cuatro (ver anexo 5), que explican el 87.5 % de la variabilidad total de las muestras. La Figura 6.12 muestra las cargas obtenidas de los dos primeros PC. La mayor parte de la variabilidad está contenida en el PC1 (37.2 %), que está relacionado positivamente con NVT, TMA, pH y TBARS, en orden de importancia. El PC2 es responsable del 24.1 % de la variabilidad y se asocia negativamente con la humedad (disminución) y positivamente con el IP. El PC3 constituye el 15.9 % de la variabilidad total, en éste la grasa total contribuye negativamente y las proteínas positivamente, es decir valores bajos de humedad están relacionados con el aumento de las

proteínas. Las cenizas contribuyen con más fuerza en el PC4 que constituye el 10.3% de la variabilidad total.



**Figura 6.12.** Gráfica de cargas del análisis de componentes principales para filetes de atún aleta azul, jurel y sierra.

Las puntuaciones de los tres PC se representaron gráficamente en un diagrama de dispersión 3D donde se encuentran nueve categorías o grupos que corresponden a las tres especies de pescado en las tres épocas del año. Para evitar el traslapamiento de los grupos y mostrar las diferencias entre las muestras, se presentan en la Figura 6.13 las puntuaciones de los PC por especie (atún aleta azul, jurel y sierra) y por época del año (verano, otoño e invierno). Las puntuaciones son las representaciones de las muestras en un nuevo espacio de dimensiones más pequeñas.

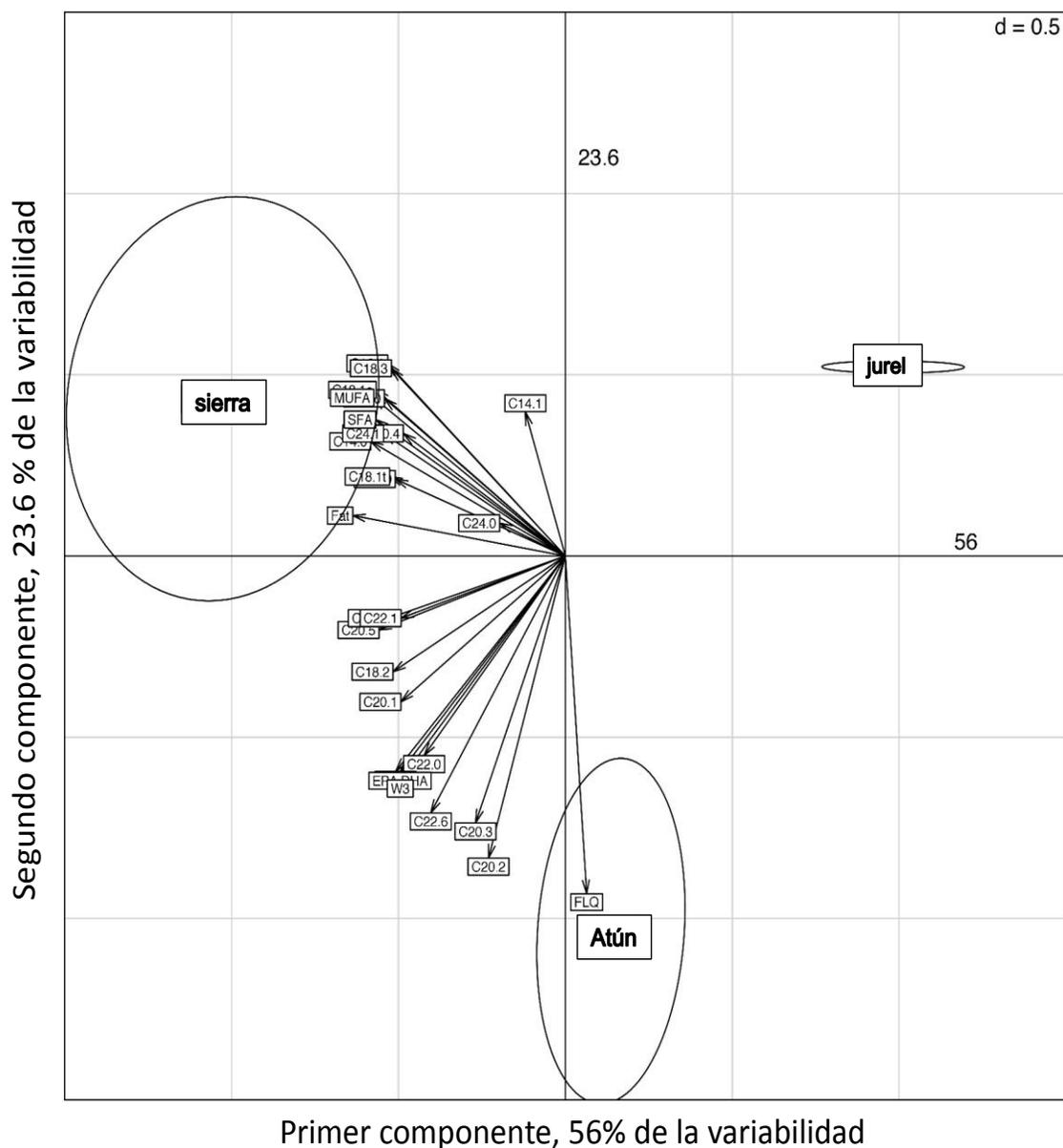


**Figura 6.13.** Gráficas de dispersión 3D de las puntuaciones del análisis de componentes principales por especie a) atún aleta azul (verano  $\blacklozenge$  , otoño  $\diamond$  , invierno  $\blacklozenge$  ); b) jurel (verano  $\bullet$  , otoño  $\circ$  , invierno  $\bullet$  ) y c) sierra (verano  $\blacktriangle$  , otoño  $\triangle$  , invierno  $\blacktriangle$  ).

El análisis de componentes principales de los ácidos grasos se efectuó sólo para las muestras de verano y otoño, ya que con estas se construyó el modelo de predicción de ácidos grasos. Su interpretación se realizó en una gráfica llamada biplot (Figura 6.14), que combina las cargas (ácidos grasos representados por flechas) y las puntuaciones (muestras). En un mismo sistema de coordenadas bidimensional se interpreta el significado de los dos primeros PC, el primer PC en el eje de las abscisas y el segundo PC en el eje de las ordenadas. Se considera que tienen correlación las variables con flechas en la misma dirección; asimismo, las muestras de pescado que se encuentran más cercanas a los ácidos grasos representados por flechas, están más caracterizadas por esas variables.

En la Figura 6.14 los dos primeros PC explican el 79% de la variabilidad, ya que las especies de pescado forman grupos distintos deben tener perfiles de AG diferentes. Las 27 variables responsables de estas diferencias (ácidos grasos individuales, grupos de ácidos grasos e índices nutricionales) fueron separadas en dos grupos principales: **(a)** C22:6, C20:5, C20:3, C18:2, C20:0, C20:1, C20:2, C22:0, C22:1, PUFA, EPA+DHA, índice de calidad del pescado de lípidos (FLQ) y el contenido de ácidos grasos omega-3/ 100 g de pescado, éstas variables mostraron correlaciones negativas en ambos PC; y se correlacionaron principalmente con el atún aleta azul, es decir que estos ácidos grasos están muy relacionados con las características del atún. Al mismo tiempo, estas variables fueron poco correlacionadas con el jurel. **(b)** grasa total, C14:0, C14:1, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1 n-7, C18:1 n-9, C18:3, C20:4, C24:0, C24:1, SFA y MUFA, estas variables describen principalmente las muestras de sierra. Se correlacionan negativamente en PC1 y positivamente en PC2, es decir a medida que crecen los valores de las variables en PC2, en PC1 decrecen esas mismas variables. El PC1 explica el 56 % de la variación y separa las especies de peces con base en su contenido de grasa total, por lo tanto, la sierra tienen la mayor puntuación en PC1 y el jurel el puntaje más bajo, reflejando el menor contenido de grasa de la última especie. El PC2 explicó otro 23.6% y separa las especies basándose principalmente en sus ácidos grasos omega-3, y por lo tanto el atún aleta azul se distingue por su alto índice de FLQ. De acuerdo con los resultados del PCA, la variación de los ácidos grasos omega-3 (C22:6, C20:5, C20:3, C18:3) se debe en menor medida a las muestras de jurel y en mayor medida a las de atún.

En resumen, los análisis de PCA exponen el efecto de la especie (atún, jurel y sierra), la época del año (verano, otoño, invierno) y los cambios del pescado durante el almacenamiento (13 días en condiciones de refrigeración) sobre la composición química, pH, índices de deterioro y perfil de ácidos grasos. Esto se reflejó en los grupos o “clusters” que aparecen en los análisis de PCA. Esta variabilidad es adecuada para el desarrollo de calibraciones estables con la información combinada de las tres especies. Esto maximiza la varianza de la matriz de datos analíticos en la que se basa el modelo quimiométrico.

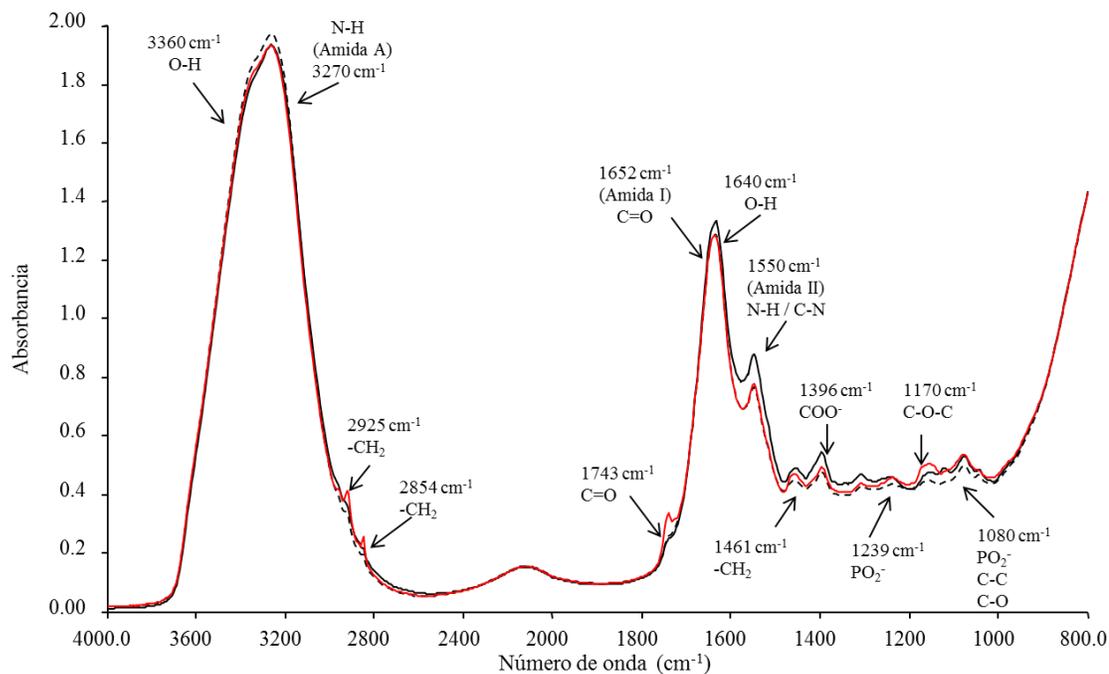


**Figura 6.14.** Gráfica de cargas y puntuaciones del análisis de componentes principales de ácidos grasos de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra.

## 6.6 Espectros MID-FTIR-ATR

Los espectros MID-FTIR-ATR de los filetes de pescado mostraron diferentes bandas de absorción que son función de los enlaces moleculares que están presentes en la muestra, por lo que todas las especies de pescado tienen una "huella digital" del espectro en función de su composición química. La Figura 6.15

muestra tres espectros de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra recién adquiridos; como se esperaba, se encontraron bandas similares en las tres especies, ya que corresponden a las vibraciones de los grupos funcionales pertenecientes a las proteínas, los lípidos y el agua, que son los componentes principales de las tres especies.



**Figura 6.15.** Espectros MID-FTIR-ATR de filetes de atún aleta azul (—), jurel (----) y sierra (—) recién adquiridos.

En los espectros MID-FTIR-ATR se observa una amplia banda entre 3600-3000  $\text{cm}^{-1}$  es debido a la vibración de O-H de agua y de amida A de las proteínas. Picos en 2958  $\text{cm}^{-1}$ , 2925  $\text{cm}^{-1}$ , 2854  $\text{cm}^{-1}$  se deben al estiramiento asimétrico del grupo metilo ( $-\text{CH}_3$ ), al estiramiento asimétrico del grupo metileno ( $-\text{CH}_2$ ) y al estiramiento simétrico del grupo metileno ( $-\text{CH}_2$ ), respectivamente. El pico observado en 1743  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a la vibración de estiramiento del grupo carbonilo de ésteres ( $\text{C}=\text{O}$ ) en triglicéridos. Una gran banda entre 1700  $\text{cm}^{-1}$  y 1600  $\text{cm}^{-1}$  se debe a la banda de amida I de las proteínas y a la contribución del grupo O-H. Se observó otra banda a 1550  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la absorción de la amida II debida al estiramiento del grupo C-N y flexión del grupo N-H. Otros picos se observaron en 1461  $\text{cm}^{-1}$  (tijereo de grupos  $-\text{CH}_2$  y  $-\text{CH}_3$  de grasa), 1396

cm<sup>-1</sup> (estiramiento simétrico del grupo COO<sup>-</sup>), 1239 cm<sup>-1</sup> (estiramiento asimétrico del grupo PO<sub>2</sub><sup>-</sup> de fosfolípidos, y de los grupos C-H y N-H de la banda de amida III), 1170 cm<sup>-1</sup> (estiramiento asimétrico del grupo C-O-C de ésteres de lípidos), 1160 cm<sup>-1</sup> (vibración de estiramiento del grupo C-O y de flexión del grupo -CH<sub>2</sub>), 1124 cm<sup>-1</sup> (vibración de estiramiento del C-O y C-C de ésteres), 1080 cm<sup>-1</sup> (estiramiento asimétrico del grupo PO<sub>2</sub><sup>-</sup>, y vibraciones de C-C y C-O de lípidos y proteínas). La interpretación de las bandas fue de acuerdo a Muniategui *et al.* (1992); Guillén & Cabo (1997), Sócrates (2000); Silverstein *et al.* (2005), y Zhang *et al.* (2012). Ver resumen en el Cuadro 6.8.

**Cuadro 6.8.** Resumen de la asignación de bandas para grupos funcionales que se encuentran en los espectros MID-FTIR-ATR de atún aleta azul, jurel y sierra.

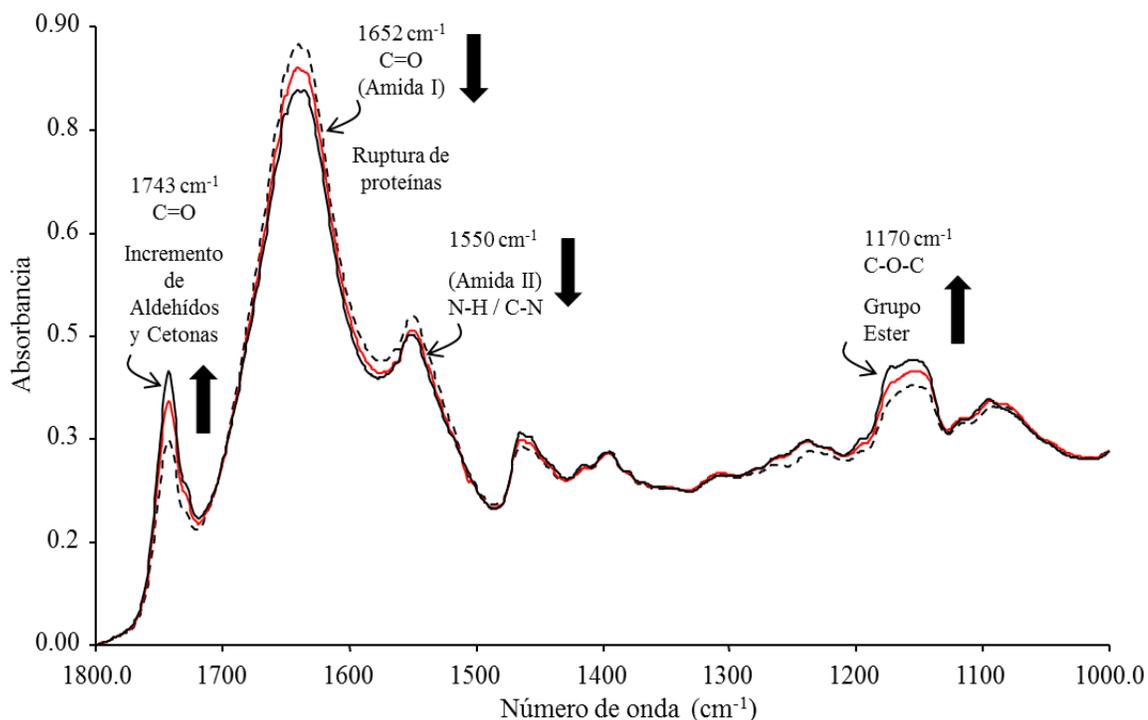
Frecuencia nominal de las bandas (cm <sup>-1</sup> )	Intensidad de Absorption <sup>a</sup>	Grupo funcional	Tipo de vibración	Referencia
3360	vs	O-H	Estiramiento o tensión	Socrates (2001)
3270	vs	N-H	Estiramiento	Socrates (2001)
2958	w	-CH <sub>3</sub>	Estiramiento asimétrico	Guillén & Cabo (1997)
2925	m	-CH <sub>2</sub>	Estiramiento asimétrico	Guillén & Cabo (1997)
2854	m	-CH <sub>2</sub>	Estiramiento simétrico	Guillén & Cabo (1997)
1743	m	-C=O	Estiramiento	Muniategui <i>et al.</i> (1992)
1652	vs	C=O	Estiramiento	Socrates (2001)
1640	vs	O-H	Estiramiento	Socrates (2001)
1550	s	N-H y C-N	Flexión, estiramiento	Socrates (2001)
1460	m	-CH <sub>2</sub> y -CH <sub>3</sub>	Flexión en tijera	Guillén & Cabo (1997) Silverstein <i>et al.</i> (2005)
1396	m	COO <sup>-</sup>	Estiramiento simétrico	Socrates (2001)
1239	w	PO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , C-H y N-H	Estiramiento asimétrico	Socrates (2001)

**Cuadro 6.8.** Continuación.

Frecuencia nominal de las bandas (cm <sup>-1</sup> )	Intensidad de Absorption <sup>a</sup>	Grupo funcional	Tipo de vibración	Referencia
1170	m	C-O-C	Estiramiento asimétrico	Socrates (2001)
1160	m	-CH <sub>2</sub> y C-O	Flexión, estiramiento	Zhang <i>et al.</i> (2012)
1124	w	C-O y C-C	Estiramiento	Guillén & Cabo (1997)
1080	w	PO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , C-C y C-O	Estiramiento simétrico	Socrates (2001), Guillén & Cabo (1997)

<sup>a</sup> Intensidad de absorción: vs, muy fuerte; s, fuerte; m, media; w, débil.

La Figura 6.16 muestra la región de 1800 a 1000 cm<sup>-1</sup> de los espectros de filetes de sierra recién adquiridos, en el segundo y en el doceavo día de almacenamiento.



**Figura 6.16.** Espectros MID-FTIR-ATR en la región de 1800–1000 cm<sup>-1</sup>, para filetes de sierra recién adquiridos (---), al segundo (—), y al doceavo (—) día de almacenamiento.

La Figura 6.16 representa los cambios en algunas bandas relacionadas con el tiempo de almacenamiento, por ejemplo, hay un aumento de productos de oxidación de lípidos, tales como aldehídos y cetonas (Sócrates, 2001), y está en consonancia con la evolución de los índices IP y TBARS. La disminución en la banda amida I ( $1652\text{ cm}^{-1}$ ) se pueden causar a la ruptura de proteínas y también se mostró un incremento de la banda  $1170\text{ cm}^{-1}$  asociada a la vibración de estiramiento de los grupos éster C-O-C (Rodríguez-Casado et al., 2007). En general, hay una de correlación entre los cambios químicos y los cambios espectrales. En la Figura 6.16 se muestra con flechas como al incrementarse el tiempo de almacenamiento hay aumento o disminución de algunas bandas de absorción.

## **6.7 Desarrollo de los modelos quimiométricos**

Los modelos quimiométricos son modelos de calibración multivariante que permiten la predicción de varios parámetros químicos que caracterizan a los filetes de atún aleta azul, jurel y sierra. El desarrollo de los modelos es un proceso largo que consiste en elegir las regiones espectrales (números de onda), los pretratamiento espectrales y el número de factores que permitan establecer una buena correlación entre los datos espectrales (matriz de datos espectrales) y los valores analíticos de los parámetros químicos (matriz de datos analíticos).

### **6.7.1 Datos analíticos**

En la creación de los modelos quimiométricos se utilizaron distintas muestras que aportaron la información para la matriz de datos analíticos. En la primera etapa del trabajo, que fue la predicción de ácidos grasos individuales y grupos de ácidos grasos, se utilizaron sólo las muestras de verano y otoño (66 muestras). En tanto que para la segunda etapa, que fue la predicción de los parámetros de composición química, deterioro e índices nutricionales, se amplió la información y se utilizaron las muestras de verano, otoño e invierno (102 muestras en total).

A continuación en los Cuadros 6.9 a 6.11 se muestran los valores máximos y mínimos de los parámetros modelados. Estos valores analíticos fueron usados para la creación de los modelos quimiométricos de predicción. Para cada parámetro los valores máximos y mínimos representan los límites de cuantificación de los modelos, ya que estos son los intervalos de concentración que los modelos son capaces de predecir.

El Cuadro 6.9 muestra los valores máximos y mínimos de los parámetros de composición química. Analizando todas las muestras de atún aleta azul, jurel y sierra en conjunto, estas mostraron gran variabilidad, en particular para grasa, proteína y contenido de cenizas. Esto puede ser observado por los grandes coeficientes de variación (CV) que se calcularon de forma global.

**Cuadro 6.9.** Valores máximos y mínimos de los parámetros de composición química de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra.

Composición química (g /100 g filete)	N <sup>a</sup>	Promedio <sup>b</sup>	SD <sup>c</sup>	Mínimo	Máximo	CV (%) <sup>d</sup>	SEL <sup>e</sup>
Humedad	102	74.29	1.79	69.71	78.27	2.40	0.0499
Grasa total	102	4.37	2.11	1.07	10.16	48.08	0.1490
Proteína	102	20.13	2.01	16.98	25.42	9.97	0.1186
Cenizas	102	1.23	0.11	1.01	1.44	9.28	0.0004

Nota: <sup>a</sup> N, número de muestras, <sup>b</sup> Valor promedio de las 102 muestras; <sup>c</sup> SD, desviación estándar; <sup>d</sup> CV, coeficiente de variación (SD /media) x 100; <sup>e</sup> SEL, error estándar de laboratorio.

El Cuadro 6.10 muestra los valores máximos y mínimos de pH, nitrógeno volátil total (NVT), trimetilamina (TMA), índice de peróxido (IP) e índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) de las muestras de atún aleta azul, jurel y sierra analizadas en conjunto. Los parámetros mostraron amplios coeficientes de variación (CV) por los cambios ocurridos durante los 13 días en refrigeración.

El Cuadro 6.11 presenta los valores máximos y mínimos de los índices nutricionales y el perfil de ácidos grasos de las muestras de atún aleta azul, jurel y sierra que se utilizaron para el desarrollo del modelo de predicción.

**Cuadro 6.10.** Valores máximos y mínimos de los parámetros de pH e índices de deterioro de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra.

índices de deterioro	N <sup>a</sup>	Promedio <sup>b</sup>	SD <sup>c</sup>	Mínimo	Máximo	CV (%) <sup>d</sup>	SEL <sup>e</sup>
pH	102	6.19	0.43	5.19	7.49	7.00	0.0001
Nitrógeno volátil total (mg N/100 g filete)	102	24.94	11.25	8.76	60.36	45.11	0.7124
Trimetilamina (mg N/100 g filete)	102	5.43	7.35	0	34.93	135.21	0.0495
Índice de peróxido (meq peróxido/kg filete)	102	0.90	0.40	0.21	1.88	45.00	0.0052
Índice de las sustancias reactivas al ácido 2 - tiobarbitúrico. (mg MDA /kg filete)	102	0.72	0.44	0.09	2.27	60.95	0.0035

Nota: <sup>a</sup> N, número de muestras, <sup>b</sup> Valor promedio de las 102 muestras; <sup>c</sup> SD, desviación estándar; <sup>d</sup> CV, coeficiente de variación (SD /media) x 100; <sup>e</sup> SEL, error estándar de laboratorio.

**Cuadro 6.11.** Concentraciones máximas y mínimas de los 20 ácidos grasos individuales, grupos de ácidos grasos e índices nutricionales de filetes de atún aleta azul, jurel y sierra.

Parámetro	N <sup>a</sup>	Promedio	SD <sup>b</sup>	Mínimo	Máximo	CV (%) <sup>c</sup>
Índices nutricionales						
Omega-3/100 g pescado <sup>d</sup>	102	1.34	0.65	0.30	2.77	48.24
FLQ (%) <sup>e</sup>	102	28.24	9.84	16.44	46.62	34.84
IA <sup>f</sup>	102	0.57	0.14	0.33	0.80	24.59
IT <sup>g</sup>	102	0.38	0.13	0.20	0.58	32.81
HH <sup>h</sup>	102	1.90	0.53	1.21	2.97	28.04

**Cuadro 6.11. Continuación.**

Parámetro	N <sup>a</sup>	Promedio	SD <sup>b</sup>	Mínimo	Máximo	CV (%) <sup>c</sup>
Ácidos grasos (mg / 100 g de filete)						
SFA <sup>i</sup>	66	2018.49	766.34	1040.50	4172.42	37.97
MUFA <sup>j</sup>	66	1515.65	770.41	582.51	3362.03	50.83
PUFA <sup>k</sup>	66	1847.11	698.27	769.05	2937.56	37.80
EPA <sup>l</sup> + DHA <sup>m</sup>	66	1509.93	571.10	2431.53	2431.22	37.82
C14:0	66	148.13	85.14	48.68	311.71	57.48
C14:1 n-5	66	40.02	15.83	12.47	71.36	39.55
C16:0	66	1296.48	533.76	612.53	2780.02	41.17
C16:1 n-7	66	263.72	170.41	58.53	665.09	64.62
C18:0	66	525.83	163.59	266.06	1008.31	31.11
C18:1 n-7	66	117.80	50.86	48.78	528.05	43.18
C18:1 n-9	66	972.57	521.75	374.06	2282.57	53.65
C18:2 n-6	66	65.95	35.83	24.36	147.91	54.33
C18:3 n-3	66	43.21	21.28	20.50	103.41	49.24
C20:0	66	26.99	20.92	4.73	105.87	77.51
C20:1 n-9	66	54.60	34.26	17.58	128.84	62.75
C20:2 n-6	66	17.44	9.95	5.76	44.00	57.04
C20:3 n-3	66	169.29	94.34	55.39	422.56	55.73
C20:4 n-6	66	41.28	23.55	13.67	109.86	57.05
C20:5 n-3 (EPA <sup>l</sup> )	66	309.85	205.79	74.97	757.53	66.42
C22:0	66	5.22	2.33	2.04	24.28	44.64
C22:1 n-9	66	19.02	7.13	5.81	59.10	37.50
C22:6 n-3 (DHA <sup>m</sup> )	66	1200.08	424.95	478.50	1990.07	35.41
C24:0	66	15.84	5.34	7.32	43.48	33.69
C24:1 n-9	66	47.91	15.51	17.94	84.33	32.37

Notas: <sup>a</sup> N, número de muestras, <sup>b</sup> SD, desviación estándar. <sup>c</sup> CV, coeficiente de variación (SD \* 100/promedio). <sup>d</sup> Omega-3/100 g filete = gramos de (C22:6n-3 + C20:5n-3 + C20:3n-3 + C18:3n-3)/100 gramos de filete. <sup>e</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado. <sup>f</sup> IA, Índice de aterogenicidad. <sup>g</sup> IT, Índice de trombogenicidad. <sup>h</sup> HH, Relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos. <sup>i</sup> SFA, ácidos grasos saturados, <sup>j</sup> MUFA, ácidos grasos monoinsaturados, <sup>k</sup> PUFA, ácidos grasos poliinsaturados, <sup>l</sup> EPA, ácido eicosapentaenóico (C20:5 n-3), <sup>m</sup> DHA, ácido docosahexaenóico (C22:6 n-3).

Los altos coeficientes de variación obtenidos en cada parámetro, debido a la combinación de la información de tres especies de pescado en tres épocas del año, garantizan el desarrollo de modelos quimiométricos robustos.

### 6.7.2 Selección de la región espectral

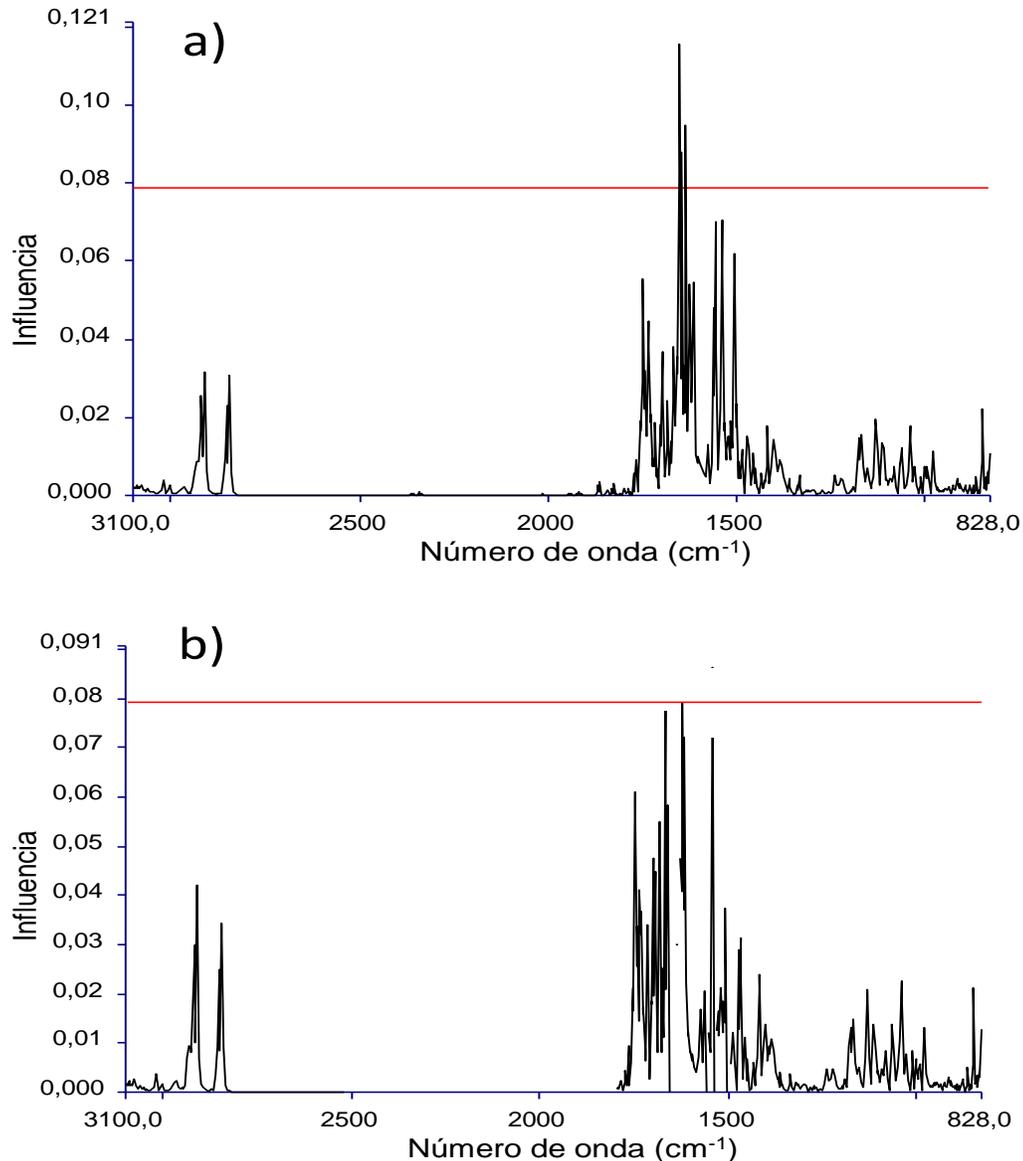
Para el desarrollo de los modelos quimiométricos de predicción, no se utilizó todo el intervalo espectral de 4000 a 700  $\text{cm}^{-1}$ , se eligieron las regiones espectrales más apropiadas para la adecuada predicción de los parámetros de interés, y estas conformaron la matriz de datos espectrales. El uso de sólo algunas variables reduce la alta dimensionalidad y multicolinealidad de los espectros, de esta forma se simplifica el proceso de calibración.

No se pudo elegir una sola región, ya que por la naturaleza de los parámetros fue necesario utilizar regiones específicas para su predicción, las correlaciones utilizadas derivan en parte del análisis de PCA (Figura 6.12). De esta forma, se desarrollaron 5 modelos para los diferentes parámetros estudiados usando 5 diferentes regiones espectrales (Cuadro 6.12), estas regiones muestran correlaciones adecuadas entre los cambios de valores analíticos y la respuesta espectral.

**Cuadro 6.12.** Regiones espectrales utilizadas en los modelos desarrollados.

Modelo	Parámetros que predice	Regiones espectrales utilizadas
1	Humedad, proteína, pH, NVT, TMA	3232 - 2524 $\text{cm}^{-1}$ y 1800 - 792 $\text{cm}^{-1}$
2	IP y TBARS	3816 - 2524 $\text{cm}^{-1}$ y 1800 - 828 $\text{cm}^{-1}$
3	Cenizas	3232 - 2524 $\text{cm}^{-1}$ , 1800 - 1656 $\text{cm}^{-1}$ , 1651 - 1649 $\text{cm}^{-1}$ , 1645 - 1638 $\text{cm}^{-1}$ y 1633 - 796 $\text{cm}^{-1}$
4	Ácidos grasos individuales y grupos de ácidos grasos	3100 - 2524 $\text{cm}^{-1}$ , 1800 - 1661 $\text{cm}^{-1}$ , 1645 - 1638 $\text{cm}^{-1}$ , 1633 - 1565 $\text{cm}^{-1}$ , 1555 - 1543 $\text{cm}^{-1}$ , 1535 - 1509 $\text{cm}^{-1}$ , y 1500 - 828 $\text{cm}^{-1}$
5	Grasa total e índices nutricionales	3050 - 2929 $\text{cm}^{-1}$ , 2916 - 2800 $\text{cm}^{-1}$ , 1800 - 1748 $\text{cm}^{-1}$ , 1732 - 1711 $\text{cm}^{-1}$ , 1690 - 1661 $\text{cm}^{-1}$ , 1630 - 1568 $\text{cm}^{-1}$ , 1535 - 1513 $\text{cm}^{-1}$ , 1499 - 1190 $\text{cm}^{-1}$ , y 1175 - 828 $\text{cm}^{-1}$

Las bandas de absorción consideradas en los modelos fueron seleccionados con la ayuda de una gráfica de diagnóstico del software Spectrum Quant+ ®, esta gráfica llamada de influencia (“leverage graph”) (ver Figura 6.17) muestra la influencia contra número de onda y representa la variabilidad de los espectros en relación al espectro promedio de todos, por lo que indica las regiones más significativas para la creación del modelo.



**Figura 6.17.** Gráfica de influencia para el parámetro de grasa, a) Utilizando el intervalo espectral de 3100 a 828 cm<sup>-1</sup>, b) Eliminando zonas espectrales para optimizar el modelo.

En la Figura 6.17 las regiones con picos de absorción por encima de la línea de corte (que representa dos veces el valor promedio de la media de los espectros) corresponden a variables (números de onda) de muy alta absorbancia que pueden disminuir la contribución de otras regiones igualmente útiles pero de menor absorbancia, haciéndolas menos visibles para el algoritmo PLS-1 (Soriano *et al.*, 2007). De igual manera, las regiones de baja influencia variable pueden considerarse que contribuyen sólo al ruido, y debe considerarse regiones en blanco (PerkinElmer, 2000).

Por ejemplo, para el modelo de grasa y ácidos grasos, las bandas de O-H, amida A, estiramiento asimétrico de  $-CH_2$ , estiramiento de  $C=O$  (en triglicéridos), amida I y II no se consideraron en la predicción, ya que son bandas con una influencia extremadamente alta (Figura 6.17).

### **6.7.3 Selección de los pretratamientos espectrales**

Entre los pre-tratamientos probados (sección 5.11.2), los que permitieron obtener predicciones precisas en todos los modelos fueron:

- Aplicación de filtro Savitzky–Golay con 5 puntos de suavizado o “smooth”. Se utilizó para eliminar parte del ruido aleatorio presente en la señal y mejorar la relación señal-ruido.
- Aplicación de primera derivada de 5 puntos. Se utilizó para mejorar diferencias espectrales y eliminar desviaciones la línea de base.
- Aplicación de normalización tipo variable normal estándar (SNV) con “de-trending”. Se utilizó para la estandarización de los datos espectrales y para eliminar interferencias causadas por los efectos de la dispersión de la luz.

### **6.7.4 Selección del número de factores**

La selección del número de factores es un paso clave en cualquier proceso de calibración que implica la reducción de variables.

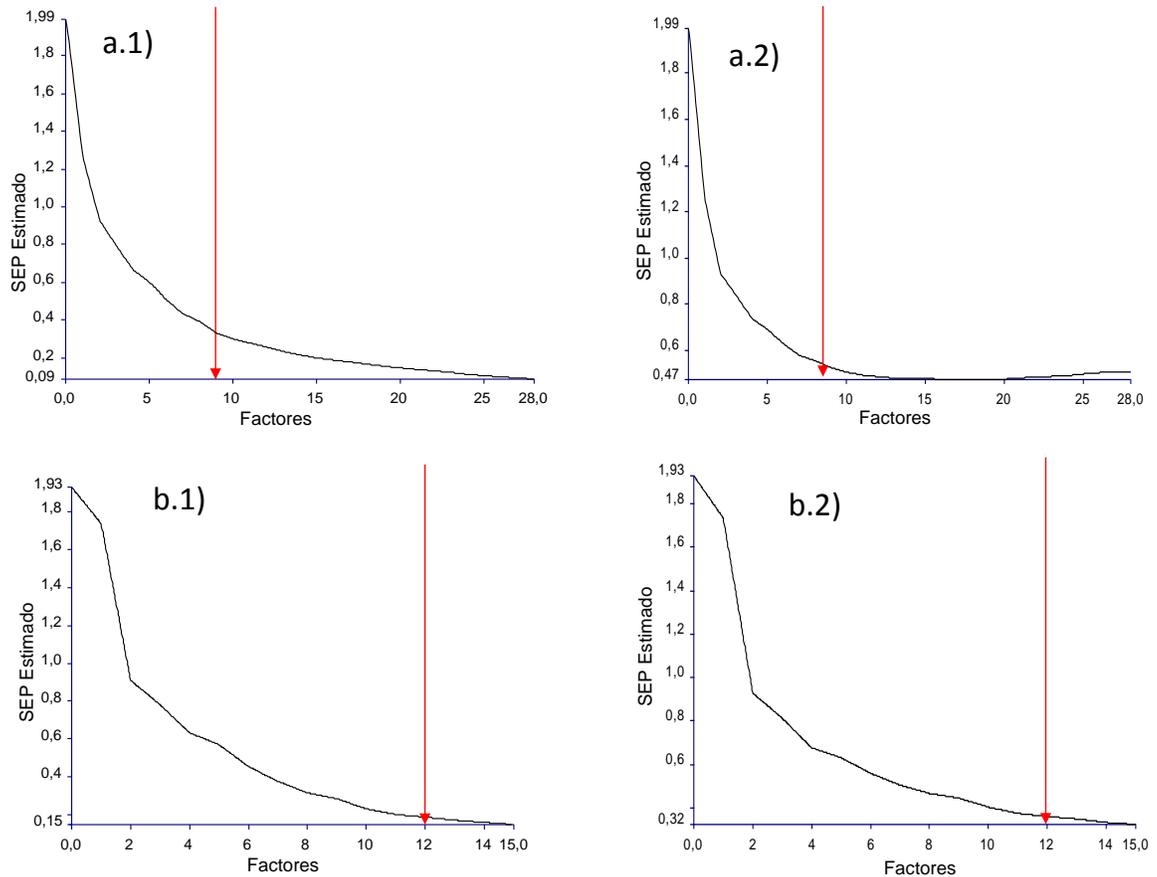
El número de factores óptimo, para cada parámetro químico evaluado, se seleccionó en función del menor error estándar de predicción (SEP) que se pudiera obtener con él. Éste análisis se obtiene de la gráfica de diagnóstico del programa Spectrum Quant+ ® en la que se presenta el SEP estimado contra el número de factores para cada parámetro químico, éste corresponde al error entre los valores estimados y los reales de los estándares de calibración, respecto al número de factores utilizados para calibrar el modelo.

El SEP es el resultado de una validación cruzada que utiliza muestras del conjunto de calibración para verificar el buen ajuste del modelo; así, el conjunto de calibración es dividido en varios bloques y el modelo es construido tantas veces como bloques se tengan, dejando un bloque para checar los resultados y los otros para desarrollar el modelo, un segmento es eliminado cada vez en cada corrida tantas veces como muestras existan. El proceso es desarrollado para cada factor con el fin de calcular el SEP de cada bloque y el resultado es acumulado para obtener un estimado confiable de la habilidad de predicción de las muestras de calibración, éste es el error estándar de predicción de las muestras de validación.

Es posible calcular SEP tanto para las muestras del conjunto de calibración como para el de validación cruzada. En la Figura 6.18, se muestran ejemplos de estas gráficas para los parámetros de grasa (Figura 6.18 a.1 y a.2) y proteína (Figura 6.18 b.1 y b.2). Las Figuras a.1 y b.1 corresponden a los resultados de calibración y las Figuras a.2 y b.2 a los resultados de la validación cruzada. En estas gráficas se muestra que el número de factores óptimo para la validación cruzada fue 9 y 12 para grasa y proteínas, respectivamente.

La elección del número de factores óptimo depende de ambas gráficas. Por ejemplo, si se observa la gráfica a.1 de calibración se podría pensar que se pueden utilizar más factores para disminuir el SEP estimado, pero esto sería contraproducente ya que de acuerdo a la gráfica a.2 de validación, después de cierto número de factores en el modelo, a medida que se emplean más, también aumenta el SEP estimado. Este fenómeno es llamado de sobreajuste u

“overfitting” y debe ser evitado ya que también genera ruido y grandes errores de predicción en el modelo (Sun, 2009).



**Figura 6.18.** Error estándar de predicción estimado (SECV) versus número de factores para el parámetro de grasa (a) y proteína (b). El número 1 indica la gráfica de la calibración y el 2 la gráfica de la validación cruzada.

El sobreajuste se produce cuando un modelo tiene un ajuste demasiado estrecho para un pequeño conjunto de datos, y es exitoso en la predicción de esas muestras de calibración, mientras que es pésimo en la predicción de nuevas muestras externas.

Shenk & Westerhaus (1994) mencionan que el número de factores debe ser el 10% del número de estándares utilizados en la calibración para evitar el sobreajuste. Aunque de acuerdo a Beebe *et al.* (1998), el número de factores debe ser menos del 50% del número de las muestras de calibración para evitar el ruido en el espectro.

En los modelos desarrollados se utilizaron, dependiendo del parámetro, del 10 al 14 % del número de muestras para los modelos de composición química y deterioro, y para el modelo de predicción de ácidos grasos e índice de deterioro del 8 al 20%.

La disminución del SECV, para encontrar el número de factores óptimo, es el resultado de utilizar en los modelos las regiones espectrales y pretratamientos adecuados, así como la eliminación de muestras atípicas.

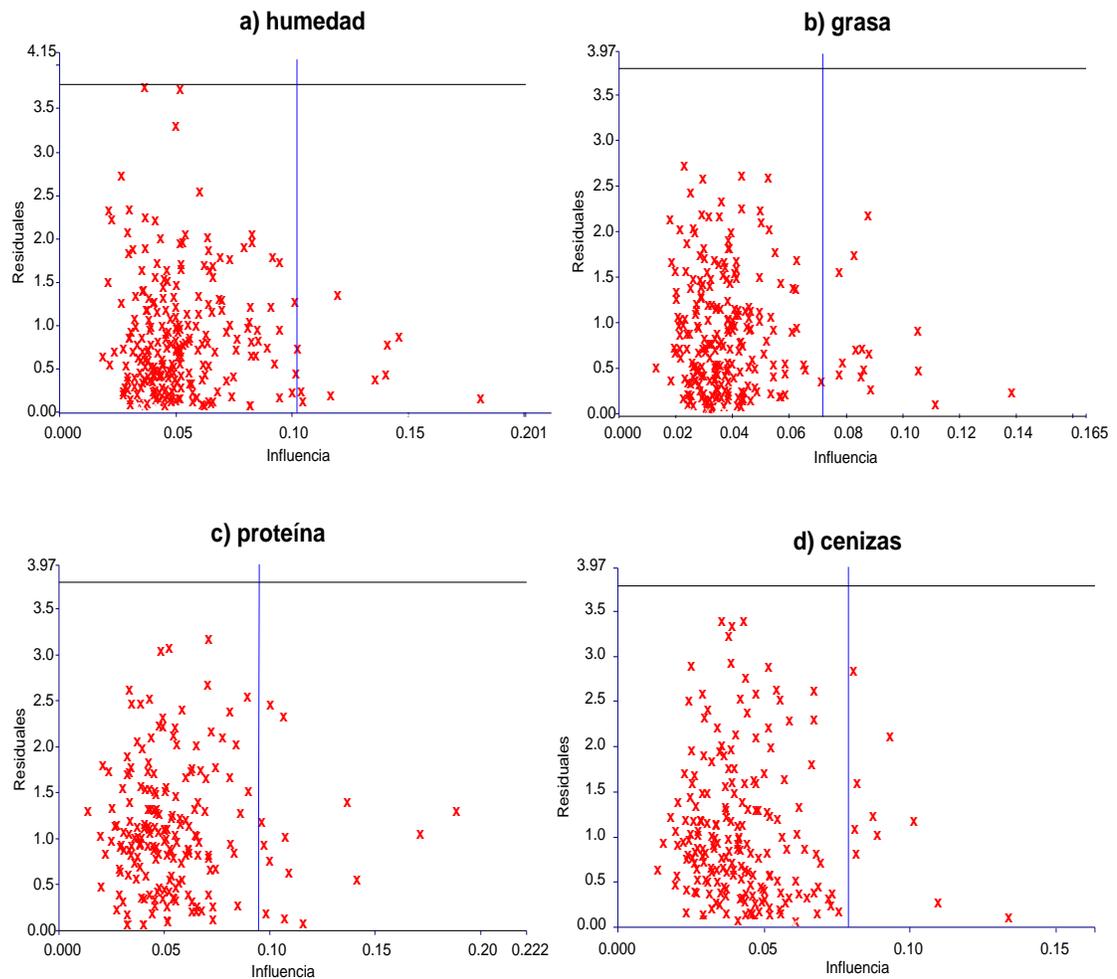
#### **6.7.5 Gráficas de muestras atípicas**

A la par de la elección del número de factores óptimo, también fue necesario realizar el análisis de otras gráficas de diagnóstico obtenidas en la calibración de cada parámetro, con el fin de optimizar el modelo.

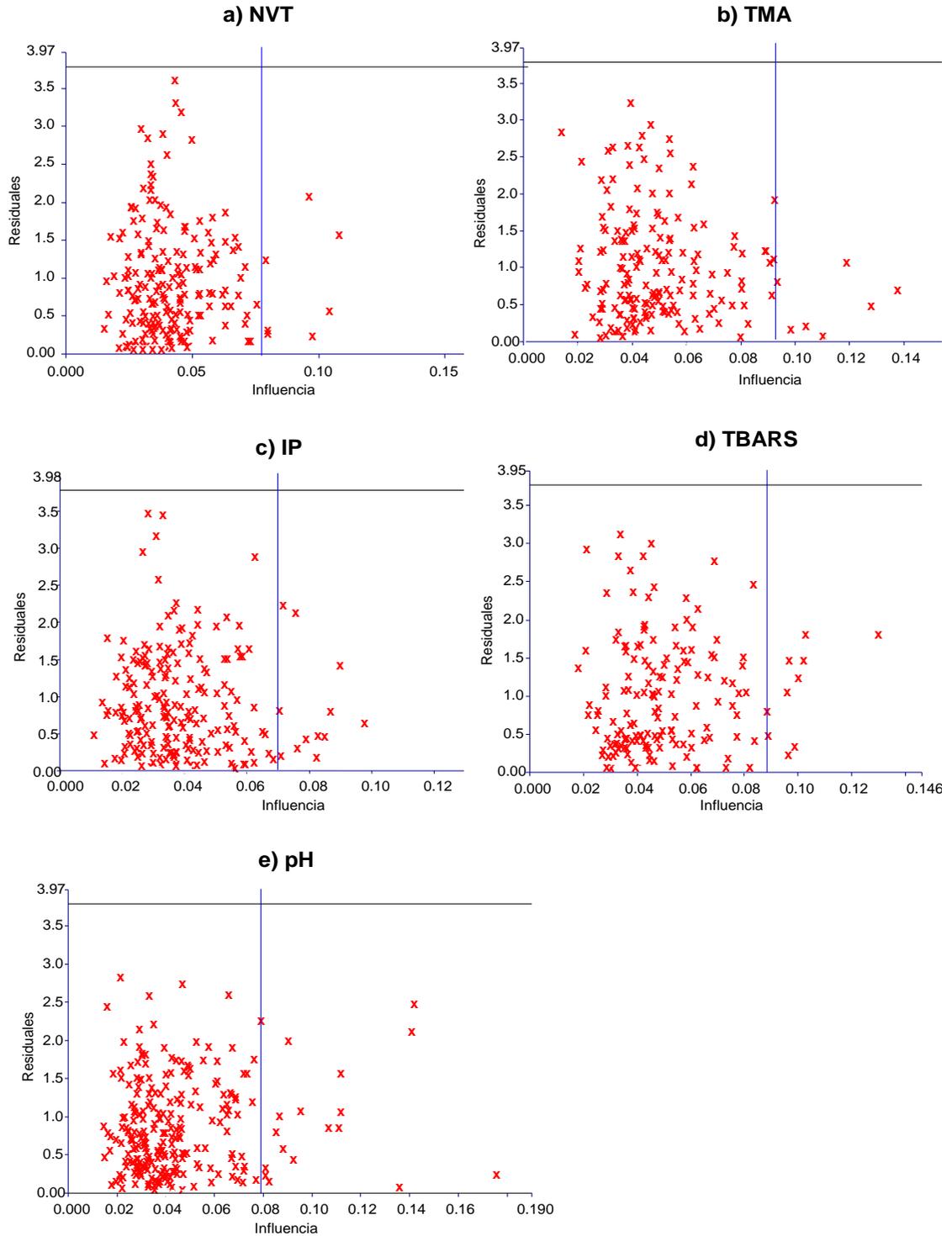
Una gráfica de diagnóstico importante para esto es la gráfica de muestras atípicas u “outliers” en donde se representan los residuales contra la influencia de todos los estándares y se pueden observar las muestras atípicas que se han utilizado para la calibración del modelo.

La gráfica de muestra atípicas (Figuras 6.19 a 6.21) contiene dos líneas de corte, una sobre cada eje. Los estándares a la derecha de la línea de corte vertical representan muestras extremas de las concentraciones consideradas (“outliers”). Los estándares que están por encima de la línea de corte horizontal pueden ser muestras cuyos valores predichos por el modelo difieren de los valores reales, por lo tanto la concentración del parámetro a evaluar no ha sido descrita adecuadamente; o bien, son muestras distintas a la población de estándares, por lo que deben ser eliminadas del conjunto de calibración (PerkinElmer, 2000). Las muestras atípicas no son necesariamente muestras incorrectas, se debe verificar si son distintas como resultado de un fenómeno real o derivado de un error en la construcción del modelo de calibración (Sun, 2009).

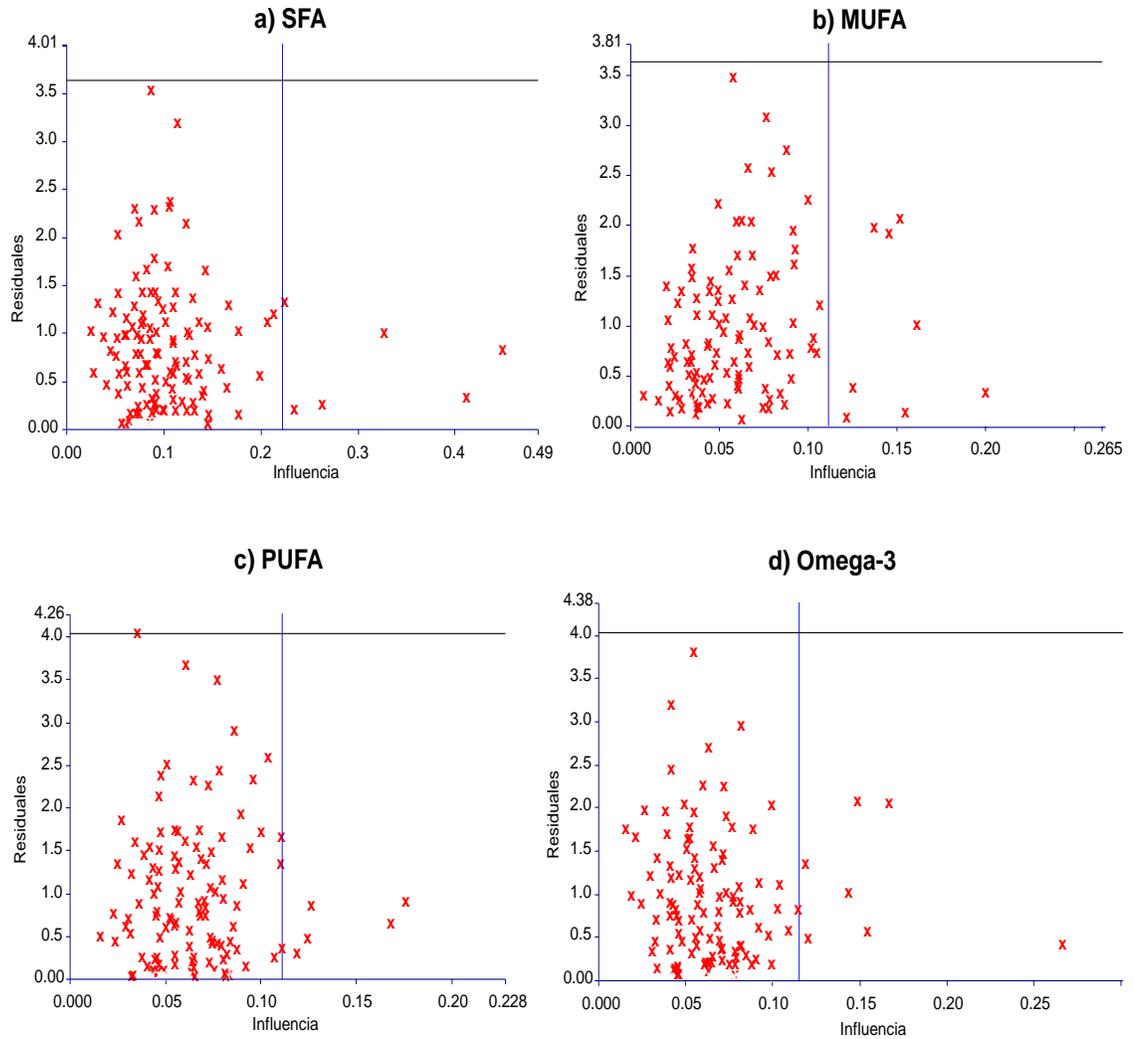
En las Figuras 6.19 a 6.21 se muestran los resultados de muestras atípicas para los parámetros de composición química (Figura 6.19), índices de deterioro (Figura 6.20) y ácidos grasos SFA, MUFA, PUFA, Omega-3 (Figura 6.21).



**Figura 6.19.** Gráfica de muestras atípicas (“outliers”) durante la calibración con el algoritmo PLS-1 para los parámetros de: a) humedad, b) grasa, c) proteína y d) cenizas.



**Figura 6.20.** Gráfica de muestras atípicas (“outliers”) durante la calibración con el algoritmo PLS-1 para los parámetros de: a) nitrógeno volátil total, b) trimetilamina, c) índice de peróxido, d) índice de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico y e) pH.



**Figura 6.21.** Gráfica de muestras atípicas (“outliers”) durante la calibración con el algoritmo PLS-1 para los parámetros de: a) Ácidos grasos saturados, b) Ácidos grasos monoinsaturados, c) Ácidos grasos poliinsaturados y d) Ácidos grasos omega-3.

Se observa que el grueso de los estándares se encuentran a la izquierda de la línea de corte vertical, lo que significa que no se alejan de la media y están perfectamente representados por los modelos quimiométricos.

Los estándares a la derecha de la línea de corte vertical son, como se mencionó anteriormente, estándares con características distintas a la mayoría de la población, es decir son muestras atípicas y tienen concentraciones mucho mayores o menores que la media del parámetro. La mayoría de éstos se

conservaron ya que permiten que el modelo tenga la capacidad de cuantificar muestras problema de baja o alta concentración. Por otro lado, los estándares que se presentaron por arriba de la línea de corte horizontal fueron excluidos de la calibración pues presentaron características anómalas.

La detección de estándares atípicos que están muy alejados de la línea de corte vertical, también son denominados puntos influyentes y proporcionan la información acerca de si una muestra desconocida pertenece o no a una clase. La detección de estos estándares atípicos en la etapa de calibración es importante porque la inclusión de estas muestras discrepantes puede afectar negativamente la solidez y la capacidad de predicción del modelo resultante (Sun, 2009; Macho, 2002).

#### **6.7.6 Resultados estadísticos de los modelos quimiométricos**

El Cuadro 6.13 muestra los resultados estadísticos de los modelos quimiométricos optimizados y desarrollados con el algoritmo PLS-1 para la predicción de los parámetros de composición química (humedad, grasa, proteína y ceniza), pH y los índices de deterioro (NVT, TMA, IP y TBARS). El Cuadro 6.14 muestra los resultados estadísticos del modelo de predicción de ácidos grasos, grupos de ácidos grasos e índices nutricionales para las especies de atún aleta azul, jurel y sierra.

La capacidad predictiva de los modelos quimiométricos fue evaluada para cada parámetro a través del coeficiente de determinación ( $R^2$ ), el error estándar de calibración (SEC), el error estándar de validación cruzada (SECV), los valores de desviación residual de predicción en la validación cruzada (RPD<sub>cv</sub>), los valores de la pendiente (“slope”) de las gráficas de valor estimado *versus* valor real y los porcentajes de diferencia relativa (% RD) obtenidos de las gráficas de valor estimado *versus* valor real de las muestras de predicción externa.

**Cuadro 6.13.** Resultados estadísticos de los modelos quimiométricos optimizados desarrollados con el algoritmo PLS-1 para la predicción de la composición química, pH y los índices de deterioro en filetes de atún aleta azul, jurel y sierra.

Parámetro	N <sup>a</sup>	factores PLS-1	R <sup>2</sup> <sup>b</sup>	SEC <sup>c</sup>	SECV <sup>d</sup>	RPDcv <sup>e</sup>	Slope <sup>f</sup>
Composición química (%)							
Humedad	90	13	0.988	0.21	0.34	5.25	0.987
Grasa total	90	9	0.969	0.36	0.42	5.01	0.969
Proteína	90	12	0.992	0.18	0.36	5.57	0.990
Ceniza	90	10	0.985	0.01	0.02	5.59	0.986
pH e índices de deterioro							
pH	90	10	0.987	0.05	0.06	7.18	0.987
NVT <sup>g</sup> (mg N/100 g filete)	90	10	0.944	2.40	3.50	3.21	0.942
TMA <sup>h</sup> (mg N/100 g filete)	90	12	0.963	1.042	1.752	3.93	0.962
IP <sup>i</sup> (meq peróxido/ kg filete)	90	9	0.967	0.07	0.11	3.67	0.966
TBARS <sup>j</sup> (mg MDA / kg filete)	90	10	0.969	0.06	0.14	3.23	0.968

<sup>a</sup> N, número de muestras (conjunto de calibración y de validación cruzada).

<sup>b</sup> R<sup>2</sup>, coeficiente de determinación.

<sup>c</sup> SEC, error estándar de calibración.

<sup>d</sup> SECV, error estándar de validación cruzada.

<sup>e</sup>RPDcv, desviación residual de predicción en la validación cruzada (desviación estándar/SECV).

<sup>f</sup> Slope, pendiente en la gráfica de valor estimado *versus* valor real para el parámetro.

<sup>g</sup> NVT, nitrógeno volátil total.

<sup>h</sup> TMA, trimetilamina.

<sup>i</sup> IP, índice de peróxido.

<sup>j</sup> TBARS, índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico.

**Cuadro 6.14.** Resultados estadísticos de los modelos quimiométricos optimizados desarrollado con el algoritmo PLS-1 para la predicción del perfil de ácidos grasos e índices nutricionales en filetes de atún aleta azul, jurel y sierra.

Parámetro	N <sup>a</sup>	factores PLS-1	R <sup>2</sup> <sup>b</sup>	SEC <sup>c</sup>	SECV <sup>d</sup>	RPD <sup>e</sup>	Slope <sup>f</sup>
Índices nutricionales							
Omega-3/100 g filete <sup>g</sup>	90	13	0.964	0.132	0.171	3.40	0.946
FLQ (%) <sup>h</sup>	90	17	0.995	0.729	1.178	8.35	0.999
IA <sup>i</sup>	90	17	0.992	0.013	0.022	6.36	0.996
IT <sup>j</sup>	90	13	0.990	0.013	0.018	7.22	1.032
HH <sup>k</sup>	90	18	0.993	0.044	0.078	6.79	1.072
Ácidos grasos (mg/ 100 g de filete)							
SFA <sup>l</sup>	60	12	0.996	47.29	99.75	7.68	0.996
MUFA <sup>m</sup>	60	6	0.985	89.73	111.70	6.90	0.985
PUFA <sup>n</sup>	60	6	0.971	131.90	163.30	4.28	0.971
EPA <sup>o</sup> + DHA <sup>p</sup>	60	6	0.970	111.50	139.30	4.10	0.967
C14:0	60	6	0.978	13.01	17.11	4.98	0.976
C14:1 n-5	60	6	0.893	5.58	6.74	2.35	0.860
C16:0	60	6	0.980	67.15	96.00	5.56	0.979
C16:1 n-7	60	6	0.987	18.36	22.96	7.42	0.980
C18:0	60	5	0.922	40.12	50.92	3.21	0.920
C18:1 n-7	60	5	0.955	11.00	14.02	3.63	0.956
C18:1 n-9	60	6	0.984	56.37	70.41	7.41	0.984
C18:2 n-6	60	6	0.982	5.07	6.47	5.54	0.980
C18:3 n-3	60	6	0.984	2.44	3.19	6.67	0.983
C20:0	60	6	0.982	2.83	3.59	5.83	0.980
C20:1 n-9	60	6	0.972	6.06	7.44	4.61	0.971
C20:2 n-6	60	5	0.936	2.68	3.10	3.21	0.932
C20:3 n-3	60	8	0.974	16.58	24.03	3.93	0.974
C20:4 n-6	60	7	0.981	2.81	3.85	6.12	0.981
C20:5 n-3 (EPA <sup>o</sup> )	60	5	0.977	32.35	42.54	4.84	0.977
C22:0	60	6	0.931	0.66	0.83	2.80	0.920
C22:1 n-9	60	5	0.936	1.87	2.30	3.11	0.926
C22:6 n-3 (DHA <sup>p</sup> )	60	6	0.969	81.83	103.30	4.11	0.970
C24:0	60	11	0.977	0.82	1.65	3.24	0.970
C24:1 n-9	60	7	0.946	3.28	4.45	3.48	0.930

<sup>a</sup> N, número de muestras (conjunto de calibración y de validación cruzada). <sup>b</sup> R<sup>2</sup>, coeficiente de determinación. <sup>c</sup> SEC, error estándar de calibración. <sup>d</sup> SECV, error estándar de validación cruzada. <sup>e</sup> RPD<sub>cv</sub>, desviación residual de predicción en la validación cruzada (desviación estándar/SECV). <sup>f</sup> slope, pendiente en la gráfica de valor estimado versus valor real para el parámetro. <sup>g</sup> Omega-3/100 g pescado= gramos de (C22:6n-3+C20:5n-3 +C20:3n-3+C18:3n-3)/100 g de filete. <sup>h</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado, <sup>i</sup> IA, índice de aterogenicidad. <sup>j</sup> IT, índice de trombogenicidad. <sup>k</sup> HH, relación de ácidos grasos →

hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos.<sup>l</sup> SFA, ácidos grasos saturados.<sup>m</sup> MUFA, ácidos grasos monoinsaturados. <sup>n</sup> PUFA, ácidos grasos poliinsaturados. <sup>o</sup> EPA, ácido eicosapentaenóico (C20:5 n-3). <sup>p</sup> DHA, ácido docosahexaenóico (C22:6 n-3).

El número de factores de cada parámetro fue seleccionado tanto para obtener buenas predicciones (bajos SEC y SECV) y para evitar sobreajuste. El sobreajuste se produce cuando un modelo se ajusta de manera muy exacta a un conjunto de datos y es exitoso en la predicción de esas muestras de calibración, mientras que la predicción de nuevas muestras es mala.

El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) muestra la proporción de la varianza en los datos de referencia que puede ser explicada por la varianza en los datos de predicción. Tener un valor de 1 significa que el 100 % de la variación del valor real es predicha adecuadamente en la calibración. En el Cuadro 6.15 se muestra el desempeño de los modelos de regresión en función del valor del coeficiente de determinación, de acuerdo a Shenk & Westerhaus (1996) y Williams (2001).

**Cuadro 6.15.** Clasificación de las regresiones en función del coeficiente de determinación (Williams, 2001; Shenk & Westerhaus, 1996).

$R^2$	Desempeño de la Regresión
$\geq 0.91$	Describe Información cuantitativa excelente.
0.82 – 0.90	Buenas predicciones.
0.66 – 0.81	Predicciones aproximadas.
0.5 – 0.65	Sólo puede utilizarse con propósitos preliminares.

Para los parámetros de composición química, pH y los índices de deterioro (Cuadro 6.13), el  $R^2$  osciló entre 0.944 y 0.992. De acuerdo con Shenk & Westerhaus (1996), estos son considerados excelentes ya que están por encima de 0.91. Para los índices nutricionales, SFA, MUFA, PUFA, EPA, DHA, EPA + DHA y los ácidos grasos más abundantes, el  $R^2$  osciló entre 0,922 y 0,996; y para los ácidos grasos menos abundantes osciló entre 0.893 y 0.978 (Cuadro 6.14). En estos términos, los parámetros modelados presentaron valores de  $R^2$  que oscilaron entre buenos (para los ácidos grasos menos abundantes) hasta excelente para la mayoría de los parámetros (Cuadros 6.13 y 6.14).

El SEC y SECV son medidas cuantitativas de la precisión con la que las muestras de calibración o validación cruzada, respectivamente, se ajustan a la regresión. Ambos valores tienen las mismas unidades en las que se mide la concentración del parámetro. Por lo tanto, son deseables valores bajos en relación a la magnitud del parámetro (Hernández-Martínez *et al.*, 2013). Los valores del SEC y SECV para los distintos parámetros fueron bajos (Cuadros 6.13 y 6.14) y similares entre sí. Las grandes diferencias entre los valores de SEC y SECV indican la introducción de demasiados factores en los modelos, lo que puede incluir ruido (Bureau *et al.*, 2009).

Por otro lado, los valores de la pendiente (“slope”) en las ecuaciones de calibración se aproximaron a la unidad (Cuadros 6.13 y 6.14). Esto indica que los valores predichos son muy similares a los valores reales. En el análisis de los modelos de calibración, el valor de “slope” complementa la información del  $R^2$ , ya que al construir el modelo, pueden obtenerse  $R^2$  aceptables, pero valores de “slope” bajos, lo que genera grandes errores de predicción, pues al graficar los valores predichos *versus* valores reales, los valores muestran correlación pero no coinciden sobre la línea diagonal de 45 grados ( $x=y$ ).

Otro parámetro calculado fue la desviación residual de predicción en la validación cruzada (RPDcv). La determinación del RPDcv permite la comparación de las calibraciones desarrolladas para diferentes propiedades que tienen diferentes intervalos de datos. Un valor alto de RPDcv indica que el modelo tiene una buena habilidad de predicción, pues los datos predichos se ajustan con exactitud a los datos de calibración (Jones *et al.*, 2008). Williams (2001) propone una escala para interpretar los valores de RPDcv la cual se muestra en el Cuadro 6.16.

Los valores de RPDcv para los parámetros de humedad, grasa total, proteínas, cenizas y pH variaron entre 5.01 y 7.18 (Cuadro 6.13), lo que indica que las calibraciones son buenas para fines analíticos. Para NVT, TMA, IP y TBARS, los valores de RPDcv oscilaron entre 3.21 y 3.67 lo que indica que las calibraciones son aceptables a nivel de reconocimiento.

**Cuadro 6.16.** Clasificación del desempeño de predicción de un modelo y su aplicación de acuerdo a los valores de RPD. Adaptación de Williams (2001).

RPD <sub>cv</sub>	Desempeño de Predicción	Aplicación
≥ 8.1	Excelente	Cualquier aplicación
6.5 – 8.0	Muy buena	Control de procesos
5.0 – 6.4	Buena	Control de calidad
3.1 – 4.9	Aceptable	De reconocimiento
2.4 – 3.0	Pobre	Reconocimiento básico
0.0 – 2.3	Muy pobre	No recomendable

Respecto a los ácidos grasos, los valores de RPD<sub>cv</sub> para SFA, MUFA, índices nutricionales y los ácidos grasos C16:0, C16:1, C18:1n-9, C18:2, C18:3 n-3, C20:4, C20:0 variaron entre 5.54 y 8.35 (Cuadro 6.14), éstos resultados indicaron que los modelos son buenos o muy buenos, dependiendo del parámetro, para las predicciones cuantitativas.

Para el contenido de ácidos grasos omega-3/ 100 g de filete, PUFA, EPA + DHA, y el resto de los ácidos grasos, los valores de RPD<sub>cv</sub> oscilaron entre 3.11 y 4.98, éstos resultados mostraron que las predicciones del modelo son aceptables para la investigación; sólo para los ácidos grasos C14:1 y C22:0 las predicciones no son confiables en relación con los valores RPD<sub>cv</sub> de acuerdo a Williams (2001).

Los valores bajos de RPD<sub>cv</sub> pueden atribuirse, ya sea a un estrecho intervalo de los valores de referencia (que genera una pequeña desviación estándar) o a un gran error en la estimación (SECV) en comparación con la desviación estándar.

Por otro lado, la interpretación de RPD ha diferido entre otros autores, por ejemplo Sinnaeve *et al.* (1994) también indicaron que los valores de RPD arriba de 5 se consideran adecuados para el control de calidad, y los valores de RPD por encima de 2.5 se consideran adecuados para los propósitos analíticos.

### **6.7.7 Resultados de validación externa**

El desempeño de los modelos de calibración fue validado usando muestras no incluidas en el conjunto de calibración. Los modelos de predicción de ácidos grasos individuales y grupos de ácidos grasos se evaluaron con 6 muestras (2 muestras de cada especie de pescado), y los parámetros de composición química y de índices de deterioro y nutricionales se evaluaron con 12 muestras (4 muestras de cada especie de pescado). Aunque el conjunto de predicción es reducido, esto permite conocer cómo el modelo se desempeña con nuevas muestras y complementa la información de la validación cruzada sobre la capacidad de predicción del modelo. Este procedimiento se ha aplicado con éxito en otros trabajos (Hernández-Martínez *et al.*, 2010a).

Los resultados de validación externa se presentan mediante gráficas de valor estimado *versus* valor real y mediante resultados estadísticos obtenidos con el programa Spectrum Quant+ ®.

#### **6.7.7.1 Gráficas de valor estimado *versus* valor real**

Otra forma de evaluar la capacidad de predicción de los modelos que predicen los parámetros de las tres especies de pescado, es mediante gráficas que permiten visualizar la correlación entre los valores reales (concentraciones determinadas por los métodos de referencia) y los valores predichos (concentraciones estimadas por los modelos quimiométricos utilizando el algoritmo PLS-1). Estas gráficas se construyeron tanto para los datos de calibración, de validación cruzada y de validación externa. En el presente trabajo sólo se muestran para la validación externa.

La Figura 6.22 muestra las gráficas de parámetros de composición química, la Figura 6.23 muestra las gráficas de pH e índices de deterioro, la Figura 6.24 las gráficas de los índices nutricionales, y la Figura 6.25 las gráficas de la predicción de los ácidos individuales y grupos de ácidos grasos de las 6 muestras de validación externa. Las líneas discontinuas en las gráficas representan el

porcentaje de diferencia relativa (% RD). También se muestra una línea diagonal que representa la correlación perfecta entre los valores de referencia y los predichos. La desviación de cada punto respecto a la línea de 45° es la combinación del error de la técnica analítica de referencia y el error del modelo quimiométrico.

Las gráficas de la Figura 6.22 mostraron buenas correlaciones para los parámetros de humedad, proteína, cenizas y pH debido a que los valores de % RD son menores al 6.0 %. Para la grasa total el % RD es inferior al 10%.

Respecto a los parámetros de NVT, TMA, IP y TBARS, estos exhiben valores de % RD menores al 12 % (Figura 6.23), este mayor porcentaje de error se esperaba para estos parámetros, debido a sus valores de RPDcv que oscilaron entre 3.21 y 3.67. Sin embargo, una desviación del 12% se puede considerar aceptable, considerando que por los métodos convencionales la determinación tomaría mucho más tiempo.

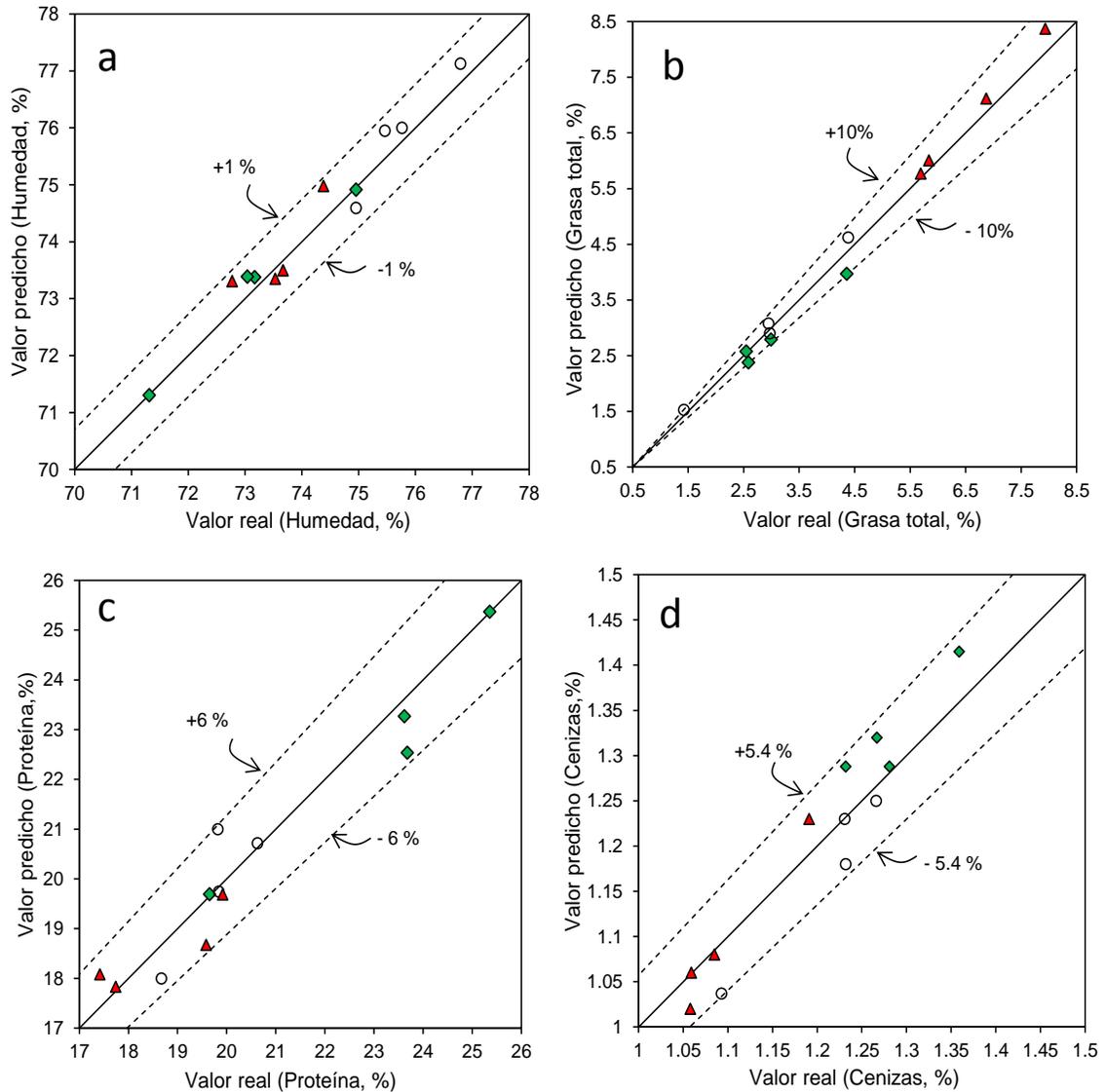
En la Figura 6.24 se muestran los resultados de predicción de los índices de nutricionales con desviaciones menores al 10%. En la Figura 6.25, se muestran los resultados de los ácidos grasos y grupos de ácidos grasos, en esta figura se presentan dos gráficas para cada una de las 6 muestras, ya que los ácidos grasos menos abundantes fueron graficados por separado.

Se observa una buena correlación entre las predicciones de ácidos grasos de mayor concentración (C16:0, C16:1, C18:0, C18:1n-9, C20:3, C20:5, C22:6) y los índices nutricionales, ya que se obtuvieron % RD menores al 10%.

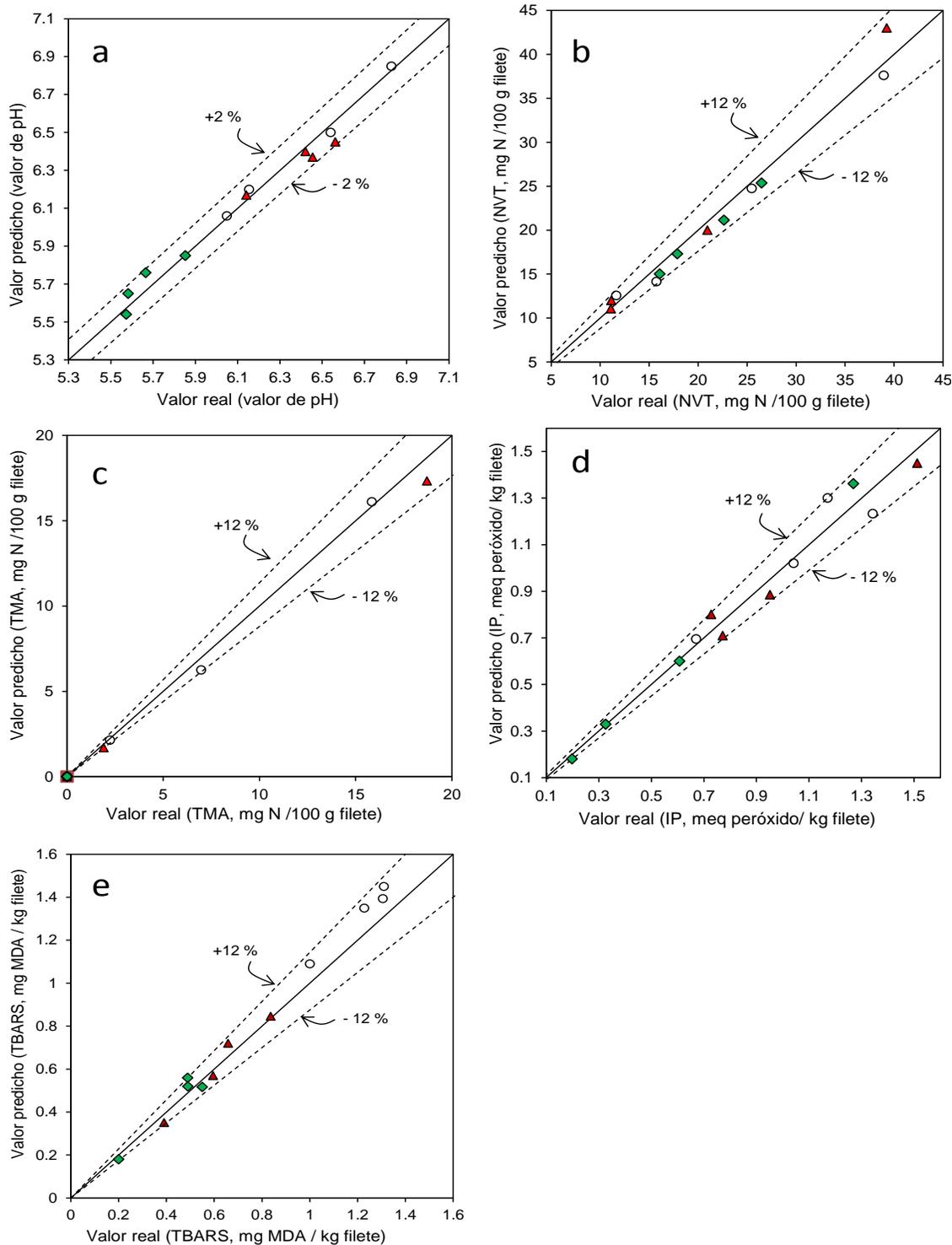
Es de destacar que se obtuvieron predicciones ligeramente mejores para C22:6 (DHA) y C20: 5 (EPA) juntos (DHA + EPA), que cuando estos ácidos grasos se evaluaron en forma individual o como contenido de omega-3.

Los ácidos grasos de menor concentración fueron más difíciles de modelar, ya que se obtuvieron % RD menores al 16.73%. Esto también explicaría porque el

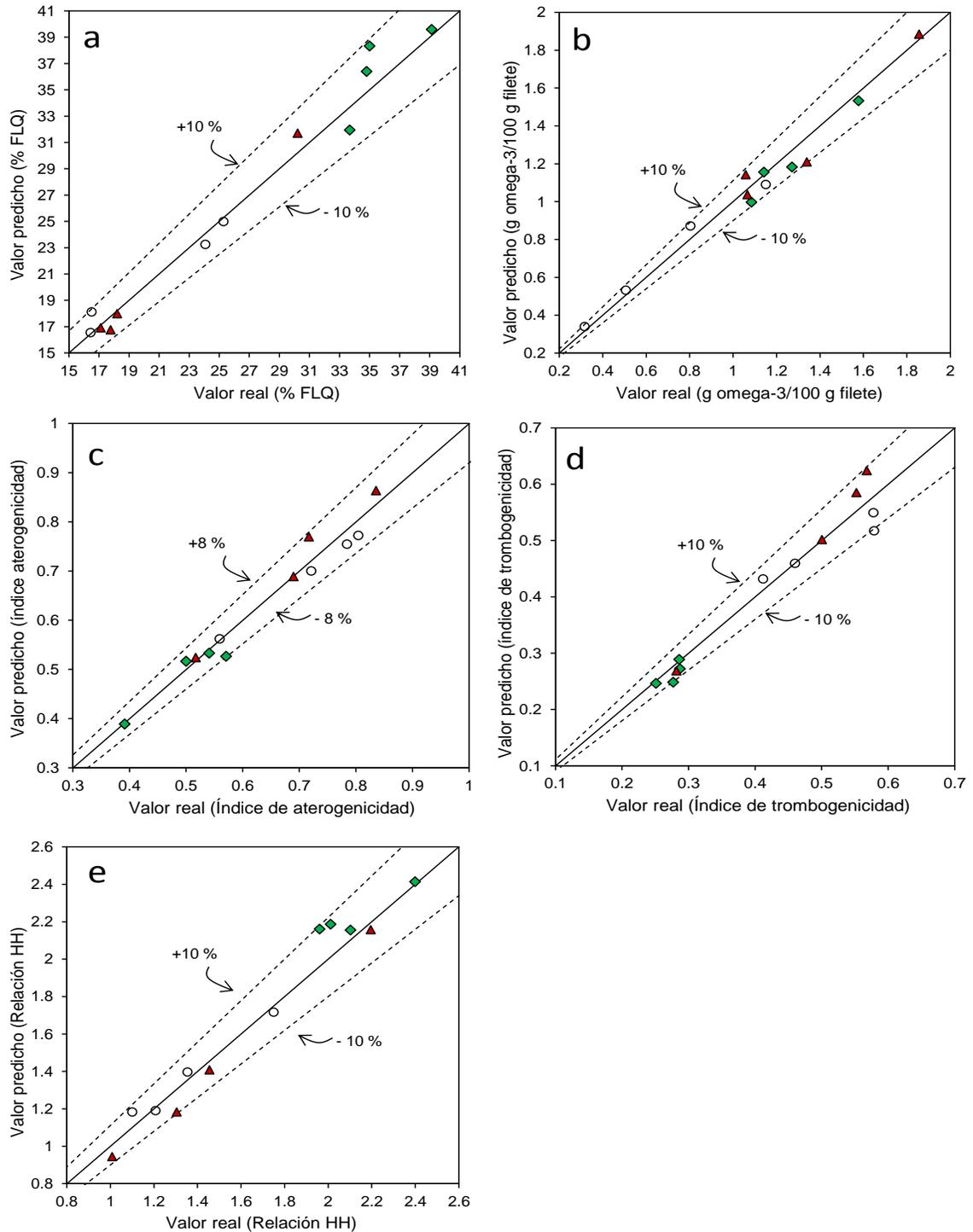
contenido de omega-3 tuvo un mayor error, ya que este parámetro incluye datos de los ácidos grasos C18:3 y C20:3, que se encuentran en menor concentración.



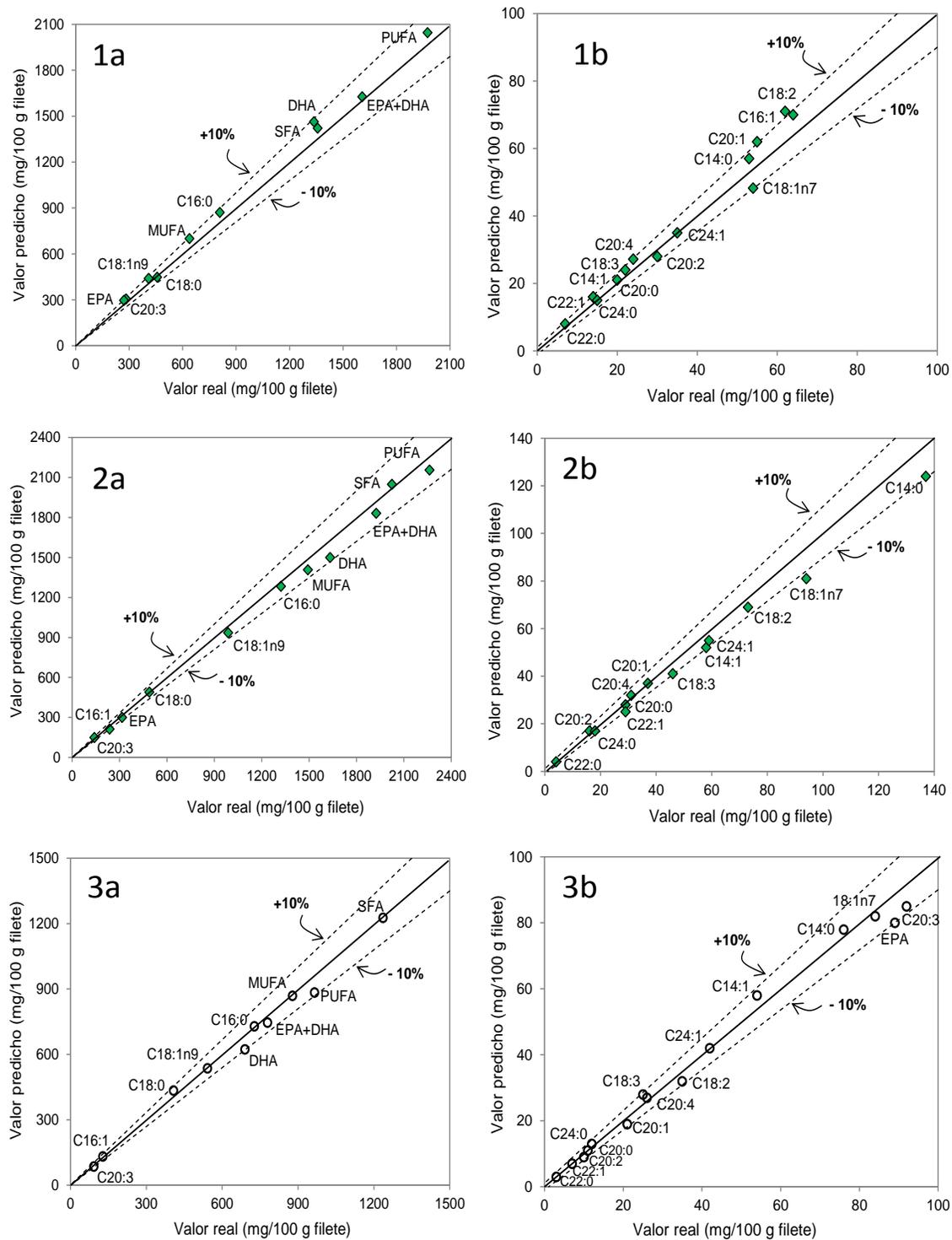
**Figura 6.22.** Valores predichos versus valores reales para humedad (a), grasa total (b), proteína (c), y cenizas (d) de las muestras externas de atún aleta azul (♦), jurel (○), y sierra (▲). Las líneas discontinuas en las gráficas representan el porcentaje de diferencia relativa (% RD).



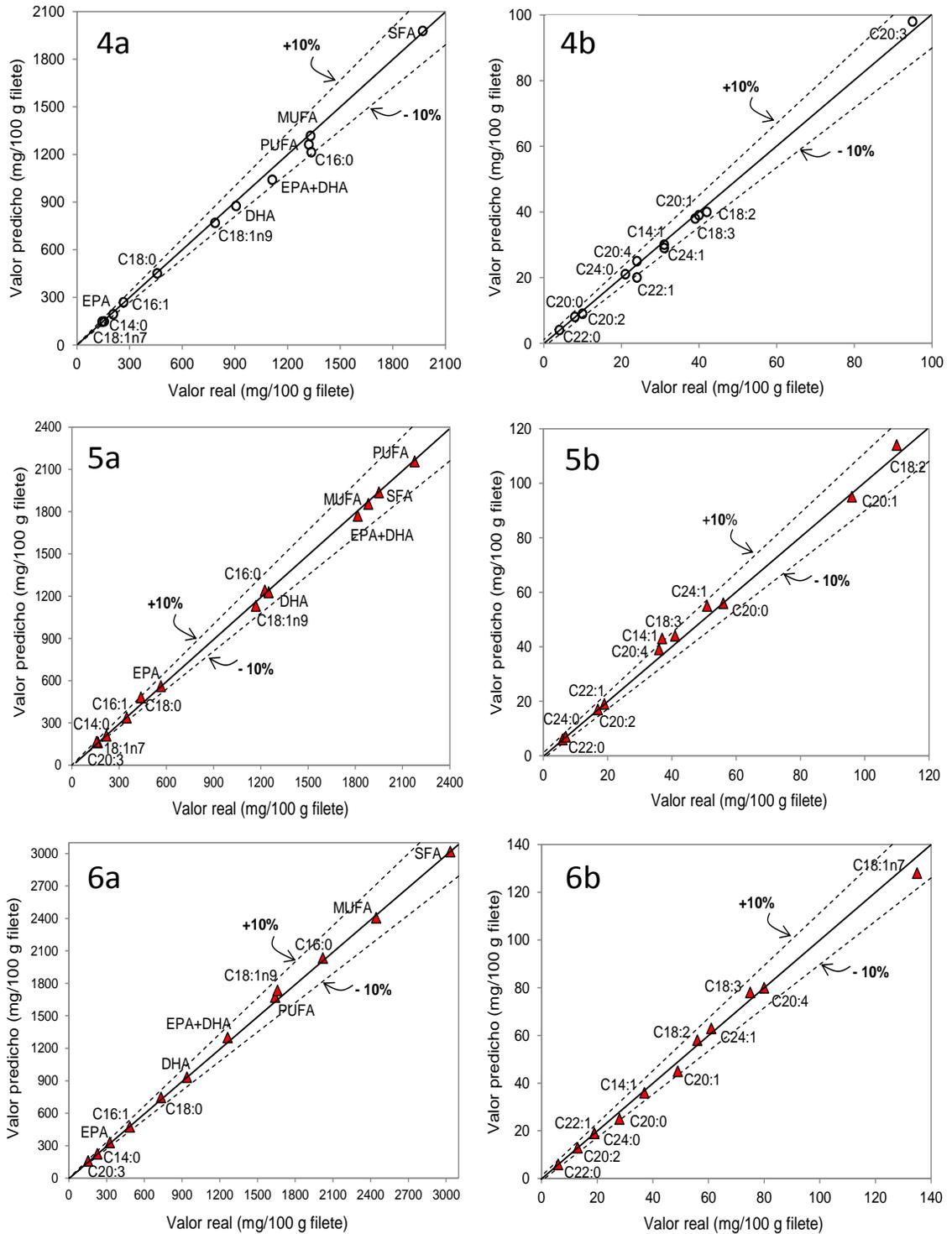
**Figura 6.23.** Valores predichos versus valores reales para pH (a), nitrógeno volátil total (b), trimetilamina (c), índice de peróxido (d) e índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (e) de las muestras externas de atún aleta azul (♦), jurel (○) y sierra (▲). Las líneas discontinuas en las gráficas representan el porcentaje de diferencia relativa (% RD).



**Figura 6.24.** Valores predichos versus valores reales para índice de la calidad de los lípidos del pescado -%FLQ- (a), contenido de omega-3 /100 g filete (b), índice de aterogenicidad -IA- (c), índice de trombogenicidad -IT- (d) y relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos -HH- (e) de las muestras externas de atún aleta azul (♦), jurel (○) y sierra (▲). Las líneas discontinuas en las gráficas representan el porcentaje de diferencia relativa (% RD).



**Figura 6.25.** Concentraciones predichas por el modelo versus concentraciones reales de ácidos grasos en muestras externas de atún aleta azul  $\blacklozenge$  (1 y 2), jurel  $\circ$  (3 y 4) y sierra  $\blacktriangle$  (5 y 6). Las gráficas con la letra "a" son para los ácidos grasos más abundantes y grupos de ácidos grasos, y con la letra "b" para los ácidos grasos menos abundantes. Las líneas discontinuas representan el porcentaje de diferencia relativa (% RD) al  $\pm 10\%$ .



**Figura 6.25.** (Continuación). Concentraciones predichas por el modelo versus concentraciones reales de ácidos grasos en muestras externas de atún aleta azul  $\blacklozenge$  (1 y 2),  $\circ$  (3 y 4) y  $\blacktriangle$  (5 y 6). Las gráficas con la letra "a" son para los ácidos grasos más abundantes y grupos de ácidos grasos, y con la letra "b" para los ácidos grasos menos abundantes. Las líneas discontinuas representan el porcentaje de diferencia relativa (% RD) al  $\pm 10\%$ .

### 6.7.7.2 Resultados estadísticos

La validación externa también fue evaluada en términos de los valores estadísticos de error residual, distancia de Mahalanobis, distancia total de Mahalanobis y la relación de residuales. En el Cuadro 6.17 se muestra como ejemplo los resultados de una muestra de atún y en el Cuadro 6.18 los de una muestra de sierra. En los cuadros se indican los resultados de 38 parámetros que se pueden predecir mediante los 5 modelos desarrollados. Los resultados de las otras 10 muestras de validación externa evaluadas con el algoritmo PLS-1 se presentan en el anexo 6.

Estos cuadros muestran como con el algoritmo PLS-1 se obtienen valores predichos muy cercanos a los valores calculados por los métodos de referencia. También, en los cuadros se presentan como ND algunos valores no detectados por el modelo; esto ocurre en las muestras de validación cuando se trata de predecir un parámetro cuyo valor es cero, como ocurre con los valores de TMA de algunas muestras, esto es debido a que el programa Quant+ no está diseñado para cuantificar el cero y en ese caso arrojará un valor muy cercano a cero o negativo (Hernández-Martínez, 2010a).

De los datos estadísticos de los Cuadros 6.17 y 6.18, se pueden analizar los siguientes datos:

La **distancia de Mahalanobis** (DM) es una distancia normalizada de un objeto a partir de la media de todos los objetos. Considera las distribuciones desiguales de objetos en diferentes direcciones en el espacio y las normaliza para que cada dirección tenga la misma medida de la distancia.

Es utilizada para describir la similitud entre los espectros de validación respecto al conjunto de muestras de calibración. Si la distancia es mayor a 1 indica que el espectro de la muestra usada en la validación no tiene las mismas características de los espectros usados en el conjunto de calibración, por lo cual no es representativo, y el resultado de la predicción debe ser tratado con precaución (PerkinElmer, 2000).

**Cuadro 6.17.** Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de atún evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 38 parámetros.

<b>MUESTRA: ATÚN 2 (OTOÑO)</b>							
<b>Propiedad</b>	<b>Valor Real</b>	<b>Valor Predicho</b>	<b>%RD<sup>a</sup></b>	<b>R-error<sup>b</sup></b>	<b>DM<sup>c</sup></b>	<b>DM total<sup>d</sup></b>	<b>RR<sup>e</sup></b>
<b>Composición química (%)</b>							
<b>Humedad</b>	71.31	71.31	0.00	0.36	0.49	0.49	0.77
<b>Proteína</b>	25.37	25.36	-0.04	0.31	0.74	0.76	0.93
<b>Grasa total</b>	2.58	2.54	-1.28	0.60	0.61	0.62	0.95
<b>Cenizas</b>	1.29	1.28	-0.54	0.02	0.39	0.38	0.70
<b>pH e índices de deterioro</b>							
<b>pH</b>	5.54	5.57	0.60	0.08	0.43	0.42	0.57
<b>NVT<sup>f</sup></b>	25.36	26.47	4.38	4.03	0.41	0.40	0.31
<b>TMA<sup>g</sup></b>	0.00	ND	NA	1.76	0.46	0.46	0.90
<b>IP<sup>h</sup></b>	1.36	1.27	-6.83	0.11	0.38	0.36	0.38
<b>TBARS<sup>i</sup></b>	0.56	0.49	-12.73	0.09	0.40	0.39	0.59
<b>Índices nutricionales</b>							
<b>Omega-3/100g filete<sup>j</sup></b>	1.08	1.00	-8.05	0.22	0.33	0.32	0.50
<b>FLQ (%)<sup>k</sup></b>	33.68	31.95	-5.14	1.25	0.50	0.51	0.50
<b>IA<sup>l</sup></b>	0.50	0.52	3.34	0.02	0.42	0.42	0.89
<b>IT<sup>m</sup></b>	0.29	0.29	1.12	0.02	0.40	0.40	0.48
<b>HH<sup>n</sup></b>	2.10	2.16	2.55	0.07	0.30	0.29	0.64
<b>Ácidos grasos (mg/ 100 g de filete)</b>							
<b>SFA<sup>o</sup></b>	2024	2048	1.19	38.50	0.61	0.62	0.88
<b>MUFA<sup>p</sup></b>	1492	1408	-5.63	55.00	0.69	0.72	0.54
<b>PUFA<sup>q</sup></b>	2262	2156	-4.69	24.80	0.48	0.47	0.70
<b>EPA<sup>r</sup> + DHA<sup>s</sup></b>	1949	1832	-6.00	29.00	0.53	0.53	0.64
<b>C14:0</b>	137	124	-9.85	22.51	0.72	0.75	1.11
<b>C14:1 n-5</b>	58	52	-10.02	9.72	0.84	0.89	0.67
<b>C16:0</b>	1322	1284	-2.87	14.30	0.45	0.44	1.00
<b>C16:1 n-7</b>	236	213	-9.75	0.94	0.17	0.87	0.83
<b>C18:0</b>	488	491	0.61	0.74	0.37	0.34	1.29
<b>C18:1 n-7</b>	94	81	-13.73	18.61	0.41	0.39	2.03
<b>C18:1 n-9</b>	987	935	-5.25	97.25	0.67	0.70	0.44
<b>C18:2 n-6</b>	73	69	-5.10	8.61	0.41	0.40	1.24
<b>C18:3 n-3</b>	46	41	-11.20	4.21	0.66	0.68	0.73

**Cuadro 6.17.** Continuación. Resultados estadísticos de la validación externa de atún 2.

Propiedad	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
Ácidos grasos (mg/ 100 g de filete)							
<b>C20:0</b>	29	28	-3.38	4.83	0.51	0.51	1.08
<b>C20:1 n-9</b>	37	37	-0.65	10.49	0.72	0.76	0.80
<b>C20:2 n-6</b>	16	17	4.69	4.57	0.57	0.58	1.23
<b>C20:3 n-3</b>	140	150	7.29	28.74	0.59	0.60	0.62
<b>C20:4 n-6</b>	24	27	12.50	4.82	0.52	0.52	1.80
<b>C20:5 n-3 (EPA<sup>r</sup>)</b>	316	301	-4.65	54.80	0.43	0.55	0.64
<b>C22:0</b>	4	5	17.35	1.13	0.60	0.62	1.04
<b>C22:1 n-9</b>	29	25	-15.38	3.18	0.45	0.44	1.03
<b>C22:6 n-3 (DHA<sup>s</sup>)</b>	1633	1500	-8.14	39.60	0.48	0.48	2.66
<b>C24:0</b>	18	17	-4.94	1.43	0.44	0.44	0.68
<b>C24:1 n-9</b>	59	54	-7.64	5.69	0.68	0.70	0.74

**Cuadro 6.18.** Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de sierra evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 38 parámetros.

MUESTRA: SIERRA 1 (VERANO)							
Propiedad	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
Composición química (%)							
<b>Humedad</b>	74.98	74.38	0.80	0.35	0.29	0.28	0.48
<b>Proteína</b>	17.83	17.74	-0.53	0.30	0.51	0.51	0.50
<b>Grasa total</b>	6.01	5.84	-2.83	0.60	0.51	0.51	0.54
<b>Cenizas</b>	1.08	1.09	0.46	0.02	0.07	0.11	0.66
pH e índices de deterioro							
<b>pH</b>	6.37	6.46	1.33	0.08	0.38	0.37	0.43
<b>NVT<sup>f</sup></b>	20.00	20.94	4.70	4.01	0.31	0.29	0.46
<b>TMA<sup>g</sup></b>	2.14	2.23	4.30	1.76	0.48	0.48	1.90
<b>IP<sup>h</sup></b>	0.89	0.95	7.47	0.11	0.55	0.56	0.50
<b>TBARS<sup>i</sup></b>	0.35	0.39	11.11	0.09	0.62	0.63	0.59
Índices nutricionales							
<b>Omega-3/100g filete<sup>j</sup></b>	1.86	1.89	1.56	0.22	0.33	0.32	0.93
<b>FLQ (%)<sup>k</sup></b>	30.21	31.70	4.95	0.26	0.68	0.69	1.64
<b>IA<sup>l</sup></b>	0.52	0.52	0.01	0.02	0.50	0.50	2.21

**Cuadro 6.18.** Continuación. Resultados estadísticos de la validación externa de sierra 1.

Propiedad	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
<b>IT<sup>m</sup></b>	0.28	0.27	-0.05	0.02	0.47	0.47	1.97
<b>HH<sup>n</sup></b>	2.20	2.16	-0.02	0.08	0.57	0.57	2.37
<b>Ácidos grasos (mg/ 100 g de filete)</b>							
<b>SFA<sup>o</sup></b>	1950	1937	-0.67	22.80	0.44	0.43	2.10
<b>MUFA<sup>p</sup></b>	1882	1856	-1.38	52.00	0.37	0.34	0.74
<b>PUFA<sup>q</sup></b>	2176	2158	-0.83	25.70	0.54	0.54	0.93
<b>EPA<sup>r</sup> + DHA<sup>s</sup></b>	1815	1771	-2.42	9.20	0.37	0.35	0.70
<b>C14:0</b>	218	210	-3.81	22.02	0.35	0.33	0.71
<b>C14:1 n-5</b>	37	43	15.32	9.46	0.40	0.38	0.44
<b>C16:0</b>	1225	1241	1.31	13.90	0.39	0.37	0.45
<b>C16:1 n-7</b>	347	338	-2.51	31.07	0.35	0.33	0.71
<b>C18:0</b>	438	481	9.82	67.74	0.37	0.34	0.45
<b>C18:1 n-7</b>	165	162	-1.58	18.63	0.43	0.42	0.39
<b>C18:1 n-9</b>	1168	1132	-3.08	5.47	0.37	0.35	0.71
<b>C18:2 n-6</b>	110	114	3.64	6.00	0.31	0.38	1.05
<b>C18:3 n-3</b>	41	44	6.41	4.13	0.35	0.32	0.56
<b>C20:0</b>	56	56	0.66	4.81	0.45	0.44	1.08
<b>C20:1 n-9</b>	96	95	-0.70	10.29	0.41	0.39	1.26
<b>C20:2 n-6</b>	17	17	-1.06	4.54	0.43	0.41	0.52
<b>C20:3 n-3</b>	157	166	5.92	28.34	0.40	0.39	1.36
<b>C20:4 n-6</b>	36	39	7.42	4.76	0.34	0.31	0.51
<b>C20:5 n-3 (EPA<sup>r</sup>)</b>	565	561	-0.71	9.60	0.48	0.48	0.94
<b>C22:0</b>	6	6	-5.03	1.12	0.51	0.51	0.65
<b>C22:1 n-9</b>	19	19	0.05	3.15	0.31	0.27	1.42
<b>C22:6 n-3 (DHA<sup>s</sup>)</b>	1249	1229	-1.60	40.30	0.57	0.59	0.80
<b>C24:0</b>	7	7	-7.01	1.42	0.41	0.41	0.78
<b>C24:1 n-9</b>	51	55	7.76	5.57	0.37	0.35	0.63

<sup>a</sup> % RD, porcentaje de diferencia relativa; <sup>b</sup> R-error, error residual (debe ser lo más bajo posible); <sup>c</sup> DM, distancia de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>d</sup> DM total, distancia total de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>e</sup> RR, relación de residuales (debe ser menor a 3); <sup>f</sup> NVT, nitrógeno volátil total (mg N/100 g filete); <sup>g</sup> TMA, trimetilamina (mg N/100 g filete); <sup>h</sup> IP, índice de peróxido (meq peróxido/ kg filete); <sup>i</sup> TBARS, índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (mg MDA / kg filete); <sup>j</sup> Omega-3/100 g pescado = gramos de (C22:6n-3 + C20:5n-3 + C20:3n-3 + C18:3n-3) /100 g de filete; <sup>k</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado; <sup>l</sup> IA, Índice de aterogenicidad; <sup>m</sup> IT, Índice de trombogénicidad; <sup>n</sup> HH, relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a →

hipercolesterolémicos; <sup>o</sup> SFA, ácidos grasos saturados; <sup>p</sup> MUFA, ácidos grasos monoinsaturados; <sup>q</sup> PUFA, ácidos grasos poliinsaturados; <sup>r</sup> EPA, ácido eicosapentaenóico (C20:5 n-3); <sup>s</sup> DHA, ácido docosahexaenóico (C22:6 n-3); ND = no detectado por el modelo; NA = no aplica.

La **distancia total de Mahalanobis** (DM total) es la relación entre la distancia de Mahalanobis para la muestra desconocida (basada en los factores utilizados en el modelo para la propiedad) y el límite de apalancamiento<sup>16</sup> para estos mismos factores. Una muestra con una distancia total de Mahalanobis mayor a 1 puede ser considerada fuera del alcance del conjunto de calibración (PerkinElmer, 2000).

La **relación de residuales** (RR) es la relación entre los residuales de cada estándar de validación respecto al promedio de los residuales de los estándares de calibración; el valor máximo aceptado es de 3. En la validación no se obtuvieron valores mayores a 3, esto significó que las características de los espectros de validación pudieron ser descritas o modeladas correctamente por el modelo con el número de factores seleccionados (PerkinElmer, 2000).

El Cuadro 6.19 muestra la interpretación que se obtiene de la combinación de los resultados de la distancia total de Mahalanobis y la relación de residuales de acuerdo a lo reportado por PerkinElmer (2000).

El **error residual** (R-error) es una medida del error asociado con el valor de la propiedad. El error R tiene las mismas unidades que el valor de la propiedad (PerkinElmer, 2000), entre menor sea su valor hay una mejor predicción. Éste estadístico da un intervalo de confianza del 95% de la exactitud del resultado de la predicción, siempre y cuando la distancia de Mahalanobis y la relación de residuales indiquen que la muestra es similar al conjunto de calibración.

---

<sup>16</sup> El apalancamiento ocurre con observaciones diferentes del resto de las observaciones de los valores de las variables independientes.

**Cuadro 6.19.** Relación entre los resultados de la distancia total de Mahalanobis y la relación de residuales (PerkinElmer, 2000).

Distancia total de Mahalanobis	Relación de residuales	Inferencia
Mayor a 1 (>1)	Mayor a 3 (>3)	Características adicionales superpuestas están presentes en el espectro desconocido.
Mayor a 1 (>1)	Menor a 3 (<3)	Algunas de las características modeladas son más intensas en el espectro desconocido que en el conjunto de calibración.
Menor a 1 (<1)	Mayor a 3 (>3)	Características no modeladas adicionales están presentes en el espectro desconocido.
Menor a 1 (<1)	Menor a 3 (<3)	El espectro desconocido es representativo del conjunto de calibración.

En las muestras se observaron bajos valores de error residual. Es importante señalar que tener un error bajo esta en función de las unidades de la propiedad, es por ello que se observan que para algunos parámetros como TBARS se tienen errores más pequeños, ya que los valores promedios de esta propiedades están en el orden de 0.72 mg/ 100 g de filete (Cuadro 6.10), en tanto que para los PUFA se tienen valores mucho más grandes, ya que esta propiedad tiene un valor promedio de 1847.11 mg/ 100 g de filete (Cuadro 6.11).

En términos generales, en las muestras de validación externa los parámetros estadísticos antes mencionados sugieren un adecuado desempeño de los modelos. Aunque en algunas predicciones aisladas, sobre todo, ácidos grasos de menor concentración, se observaron valores de DM, DM total y RR ligeramente altos, lo que indica que algunas de las características espectrales no pudieron ser modeladas de manera óptima. Esto se podría correrir desarrollando el modelo con nuevas muestras que incluyan esas características.

### 6.7.8 Comparación con otros estudios

De acuerdo a las referencias consultadas, no se encontraron trabajos sobre el uso de la espectroscopia MID-FTIR-ATR para predecir la composición química o índices de deterioro en filetes de pescado, pero algunos modelos FT-NIR basados

en el algoritmo PLS se han utilizado para predecir la composición química de pescado, estos se presentan en el Cuadro 6.20. Además, tampoco hay reportes sobre el uso de MID-FTIR-ATR o FT-NIR para predecir la composición de ácidos grasos o índices nutricionales de filetes de pescado. El Cuadro 6.20 muestra algunos estudios para predecir la composición de ácidos grasos en otras matrices y en aceite de pescado.

Los parámetros cuantificados por los modelos FT-NIR tienen valores de  $R^2$  y RPDcv similares a los obtenidos en el presente estudio, sobre todo en cuanto al contenido de grasa (Khodabux *et al.*, 2007; Xiccato *et al.*, 2004; Cozzolino *et al.*, 2002).

Asimismo, las predicciones de los grupos de ácidos grasos obtenidos en el presente estudio muestran valores de  $R^2$  y RPDcv comparados favorablemente con los resultados reportados en las predicciones de ácidos grasos en otras matrices de grasas y aceites. Aseveraciones como esta, ya han sido reportadas por Kramer *et al.* (2013) que menciona que en términos de análisis cuantitativos de EPA y DHA, la espectroscopia MID-FTIR-ATR es superior en términos de precisión y exactitud que la espectroscopia FT-NIR.

**El modelo quimiométrico desarrollado en el presente trabajo muestra dos ventajas sobre dichos estudios: puede aplicarse al pescado molido, que es materia prima; y permite predecir mayor número de ácidos grasos.**

**Cuadro 6.20.** Estudios quimiométricos para predecir la composición química de pescado y la composición de ácidos grasos en otras matrices.

Modelo	Matriz	Parámetros	$R^2$ <sup>a</sup>	RPDcv <sup>b</sup>	Autores
FT-NIR-PLS	Filetes de salmón	Grasa	0.69	1.90	Folkestad <i>et al.</i> (2008)
FT-NIR-PLS2	Listado y atún aleta amarilla	Humedad Grasa Proteína	0.98 0.95 0.99	- - -	Khodabux <i>et al.</i> (2007)
FT-NIR-PLS	Surimi de abadejo de Alaska	Proteína cruda Agua	0.964 0.956	10.38 7.66	Uddin <i>et al.</i> (2006)

**Cuadro 6.20. Continuación**

<b>Modelo</b>	<b>Matriz</b>	<b>Parámetros</b>	<b>R<sup>2</sup> <sup>a</sup></b>	<b>RPD<sub>cv</sub> <sup>b</sup></b>	<b>Autores</b>
FT-NIR-PLS	Filetes frescos picados de Lubina	Humedad Grasa Proteína	0.97 0.97 0.61	4.37 5.57 1.272	Xiccato <i>et al.</i> (2004)
FT-NIR-multiple linear regression	Filetes congelados o descongelados de Chicharro	Grasa (muestra congelada) Grasa (muestra descongelada)	0.95 0.97	2.9 3.9	Shimamoto <i>et al.</i> (2004)
FT-NIR-PLS	Pescado crudo y molido	Humedad Grasa Nitrógeno volátil total	0.99 0.99 0.96	15.10 5.38 2.06	Cozzolino <i>et al.</i> (2002)
FT-NIR-PLS	Salmón ahumado	Humedad Sal	0.936 0.775	3.96 2.06	Huang <i>et al.</i> (2002)
FT-NIR-PLS	Aceite de pescado	DHA>100-223 mg/g	0.969	3.143	Wu <i>et al.</i> (2014)
MID-FTIR-ATR-PLS	Grasas extraída de muestras de alimento para aves	Omega-6 (n-6) Omega-6 (n-3) Relación n-6/ n-3	0.999 0.994 0.998	1.87 3.52 2.45	Mahesar <i>et al.</i> (2011)
MID-FTIR-ATR -PLS	Grasa de cerdo derretida	Omega-6 (n-6) Omega-3 (n-3)	0.93 0.83	2.75 1.61	Olsen <i>et al.</i> (2008)
MID-FTIR-ATR -PLS	Grasa de vaca intermuscular	SFA MUFA	0.98 0.97	6.87 5.67	Hu <i>et al.</i> (2010)
MID-FTIR-ATR -PLS	Áceites vegetales comestibles	SFA MUFA PUFA AG trans	0.997 0.998 0.998 0.999	6.50 8.27 14.21 10.09	Sherazi <i>et al.</i> (2009)
MID-FTIR-ATR-PLS	Capsulas de aceite de pescado	Omega-3 (n-3) DHA	0.965 0.991	-- --	Vongsvivut <i>et al.</i> (2012)
MID-FTIR-ATR-PLS	Aceite de pescado	DHA>100-223 mg/g	0.937	3.012	Wu <i>et al.</i> (2014)

<sup>a</sup> R<sup>2</sup>, coeficiente de determinación <sup>b</sup> RPD<sub>cv</sub>, desviación residual de predicción en la validación cruzada (desviación estándar/SECV).

### 6.7.9 Aplicación de los modelos

La predicción de composición química, ácidos grasos e índices de deterioro mediante esta técnica sustentable podría ser una herramienta en la rápida toma de decisiones de control de calidad en las industrias que procesan pescado, para la obtención de alimentos de consumo humano directo o subproductos como harina y aceite de pescado.

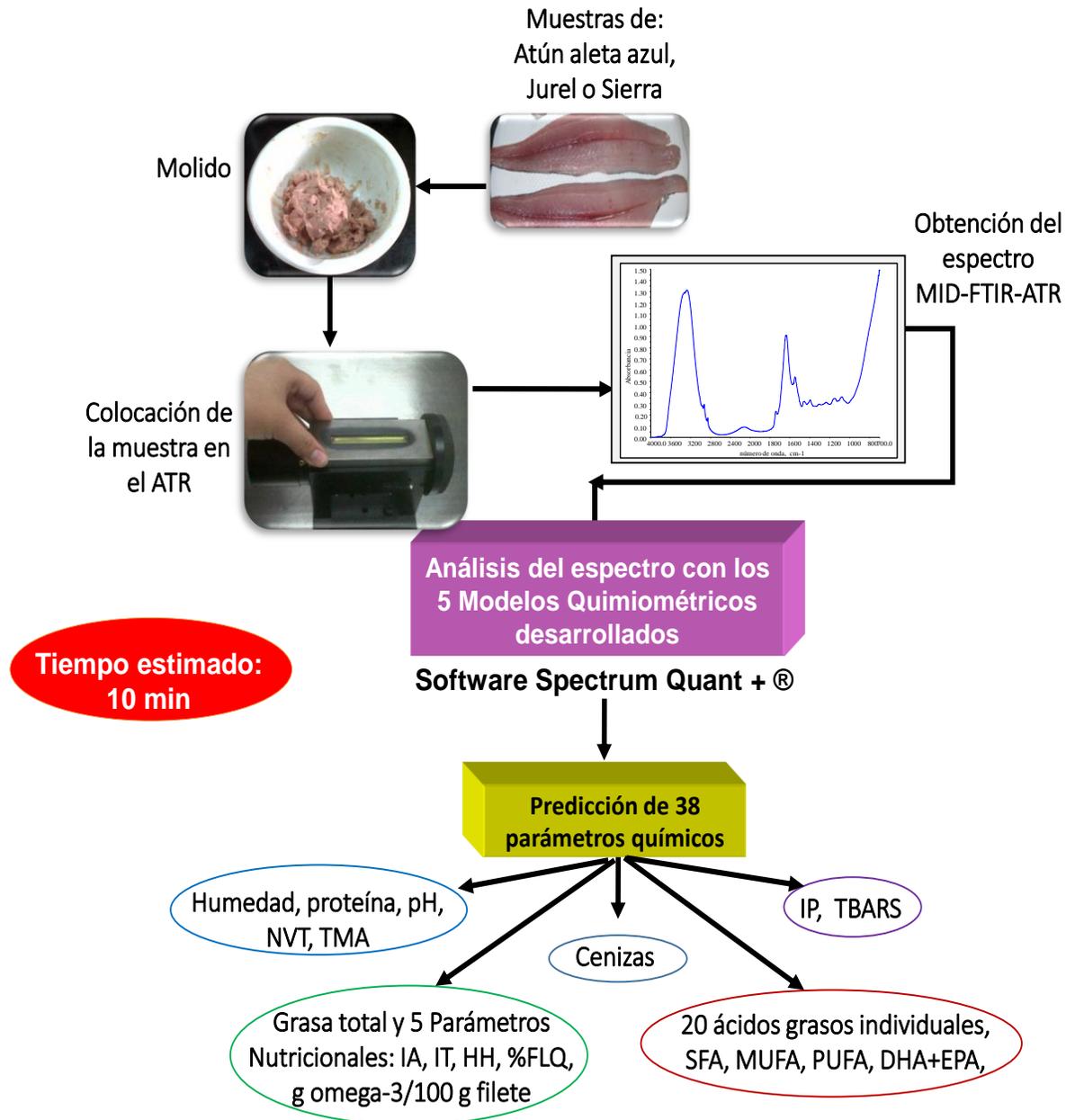
La rápida predicción de los 5 índices nutricionales facilitaría la obtención de criterios para el consumo de filetes de pescado, en función de su composición de ácidos grasos. Por ejemplo, uno de los modelos quimiométricos es una herramienta útil para calcular la cantidad de ácidos grasos omega-3 por 100 g de pescado, el significado de este valor es de importancia, ya que de acuerdo a organismos internacionales (EFSA, 2010; ISSFAL, 2004) se sugiere el consumo de 500 mg de EPA + DHA por día, o 3.5 g por semana para mejorar la salud humana.

De acuerdo a los datos del Cuadro 6.4, en verano los gramos promedio de omega-3 /100 g de atún aleta azul, jurel y sierra son 2.29, 0.97 y 2.41, respectivamente. En cuanto a la recomendación del consumo de omega-3, el consumo de 150 g de atún aleta azul o sierra por semana da el requerimiento de ácidos grasos omega-3, pero se necesitan 365 g de jurel para alcanzarlo. Esta recomendación puede ser obtenida rápidamente para cada muestra sin necesidad del método de CG o de tablas nutricionales que sólo muestran un valor promedio aproximado.

Estos modelos quimiométricos tienen las ventajas de no requerir personal especializado para su ejecución, no consumen reactivos químicos dañinos al ambiente y a quienes los manipulan, además no requieren del acondicionamiento y limpieza del material de laboratorio lo cual genera residuos y contaminación ambiental. En este sentido, la utilización de modelos quimiométricos como este en las industrias implicaría ahorro de recursos a lo largo del tiempo, ya que si bien se necesita hacer una inversión inicial en el espectrofotómetro infrarrojo y en el

montaje de la técnica, esto se hace una sola vez, y posteriormente se recupera la inversión al reducir costos en las técnicas de análisis.

Los pasos para aplicar cualquiera de los modelos quimiométricos se representan en la Figura 6.26.



**Figura 6.26.** Representación esquemática de la aplicación de los modelos quimiométricos.

# CONCLUSIONES

“Quella scienza è più utile della quale il frutto è più comunicabile, e così per contrario è meno utile quella eh'è meno comunicabile.”

(“La ciencia más útil es aquella cuyo fruto es el más comunicable”)

Leonardo da Vinci

(1452-1519) Artista, inventor, matemático y escritor italiano

## 7. CONCLUSIONES

### 7.1 Conclusiones de los análisis químicos

- La composición de atún aleta azul, jurel y sierra mostró variaciones en cada lote analizado en las tres épocas del año. La variación fue mayor en el siguiente orden: atún > sierra > jurel.
- El contenido de grasa fue el componente de mayor variación en las muestras. La especie sierra contribuyó con los valores más altos de grasa y la especie jurel con los más bajos. En invierno se obtuvieron los menores valores para todas las especies.
- Los perfiles de ácidos grasos del atún, jurel y sierra mostraron variaciones en las tres épocas del año. En cuanto al porcentaje de AG omega-3, el atún tiene el mayor porcentaje en invierno, y el jurel y la sierra tienen un mayor porcentaje en el verano.
- El atún aleta azul es la especie con mayor porcentaje de PUFA (47.41% respecto el total de ácidos grasos), el jurel la especie con mayor contenido de SFA (41.84 %), y la sierra con mayor contenido de MUFA (33.49 %).
- Los ácidos grasos más abundantes, que representan del 87 al 95% de los ácidos grasos totales, fueron C16:0 (palmítico), C22:6 n-6 (docosahexaenóico, DHA), C18:1 n-9 (oléico), C18:0 (esteárico), C20:5 n-3 (eicosapentaenóico, EPA), C16:1 (palmitoléico), y C20:3 n-3 (eicosatrienóico).
- Los índices de nitrógeno volátil total y trimetilamina fueron bajos y estables durante los primeros 5 a 8 días de almacenamiento, después aumentaron en las especies de jurel y sierra; en el atún aleta azul no mostraron cambios importantes.
- Los índices de peróxido e índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico son útiles para conocer el deterioro del pescado en los primeros días de almacenamiento, posteriormente la determinación no es muy confiable, ya que los productos de oxidación reaccionan con compuestos de deterioro de proteínas, obteniendo nuevamente valores bajos o estables de los índices.

## **7.2 Conclusiones de los modelos quimiométricos**

- El análisis de PCA mostró claramente el efecto de la especie, la época del año y los cambios del pescado durante su almacenamiento, así como los parámetros que guardan relación entre sí.
- Se desarrollaron cinco modelos quimiométricos, estos permiten la predicción de 38 parámetros de atún aleta azul, jurel y sierra.
- Con los modelos quimiométricos se obtuvieron predicciones exitosas para humedad, proteína, cenizas y pH, con porcentajes de diferencia relativa (% RD) menores al 6 %.
- El porcentaje de grasa, grupos de ácidos grasos, ácidos grasos de mayor concentración e índices nutricionales mostraron % RD menores al 10 %.
- El nitrógeno volátil total, trimetilamina, índice de peróxido e índice de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico mostraron predicciones aceptables con % RD menores al 12 %.
- Los ácidos grasos de menor concentración presentaron % RD menores al 16.73%.
- Las predicciones se pueden realizar con 2 g de muestra molida, con un mínimo de preparación, sin reactivos, sin generar residuos tóxicos y en 10 min aproximadamente a diferencia de horas en métodos químicos tradicionales.

## **7.3 Conclusión general**

Los 5 modelos quimiométricos desarrollados con el algoritmo PLS-1 se pueden aplicar en nuevas muestras, obteniendo buenas predicciones de parámetros de composición química, índices de deterioro y nutricionales y perfil de ácidos grasos de filetes de atún aleta azul, sierra y jurel, con resultados similares a los alcanzados con los análisis químicos convencionales, pero de una forma sencilla, rápida y sin el uso de otros reactivos químicos. El presente trabajo puede considerarse como una técnica sustentable para la predicción de parámetros de calidad de diversas industrias donde el filete de pescado es materia prima.

# REFERENCIAS

“Η ζωή ανεξέταστη δεν αξίζει να ζει”  
 (“La vida no examinada no vale la pena vivir”)

Σόκρατος  
(470 π.Χ. - 399 π.Χ.) Φιλόσοφο griego

## 8. REFERENCIAS

- Abrami, G., Natiello, F., Bronzi, P., McKenzie, D., Bolis, L., & Aggrade, E. (1992). A comparison of highly unsaturated fatty acid levels in wild and farmed eels (*Anguilla anguilla*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 101, 71–81.
- Alamed, J. (2008). *Impact of chemical and physical properties on the ability of antioxidants to inhibit lipid oxidation in foods*. Master thesis. University of Massachusetts Amherst. USA.
- Alexandrakis, D., Downey, G., & Scannell, A.G.M. (2012). Rapid Non-destructive Detection of Spoilage of Intact Chicken Breast Muscle Using Near-infrared and Fourier Transform Mid-infrared Spectroscopy and Multivariate Statistics. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 338–347.
- Al-Jowder, O., Kemsley, E.K., & Wilson, R.H. (2002). Detection of adulteration in cooked meat products by mid-infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1325-1329.
- AOAC (2002). *Official methods of analysis of AOAC international*, (17th ed.). Maryland: Association of Official Analytical Chemists.
- Arvanitoyannis, I.S., Tsitsika, E.V., & Panagiotaki, P. (2005). Implementation of quality control methods (physicochemical, microbiological and sensory) in conjunction with multivariate analysis towards fish authenticity. *International Journal of Food Science & Technology*, 40, 237 – 263.
- Aubourg, S.P. (1999). Recent Advances in Assessment of Marine Lipid Oxidation by Using Fluorescence. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 74, 409–419.
- Aubourg, S.P. (2001). Damage detection in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) during chilled storage. *Journal of the America Oil Chemists' Society*, 78, 857–862.
- Baeten, V. & Dardenne, P. (2002). Spectroscopy: Developments in Instrumentation and Analysis. *Grasas y Aceites*, 53, 45-63.
- Bahmani, Z.A., Rezai, M., Hosseini, S.V., Regenstein, J.M., Böhme, K., Alishahi, A., & Yadollahi, F. (2011). Chilled storage of golden gray mullet (*Liza aurata*). *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1894-1900.
- Beebe, K., Pell, R. & Seasholtz, M. (1998). *Chemometrics. A practical guide*. New York: Wiley Interscience. 120 pp.
- Bertullo, V.H. (1975). *Tecnología de los productos y subproductos del pescado, moluscos y crustáceos*. Buenos Aires, Argentina: Edit. Hemisferio Sur. 538 pp.

- BIOPESCA, Asesoría en Biología Pesquera. (2009). *Captura, engorda y comercialización de atún aleta azul (Thunnus thynnus orientalis), atún aleta amarilla (Thunnus albacares) y jurel (Seriola spp) mediante técnicas de maricultura*. Ensenada, B.C., México. Disponible en: <http://sinat.semarnat.gob.mx/dgiraDocs/documentos/bc/estudios/2009/02BC2009P0008.pdf>
- Bonanome, A., & Grundy, S.M. (1988). Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *The New England Journal of Medicine*, 12, 1244-1248.
- Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J., Papageorgiou, G.E., Vassilopoulos, V.N., Mantis, A.J. & Trakatellis, A.G. (1994). Rapid, Sensitive, and Specific Thiobarbituric Acid Method for Measuring Lipid Peroxidation in Animal Tissue, Food, and Feedstuff Samples. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 42, 1931-1937.
- Bourges, R.H., Morales, D.L.J., Camacho, P.M.E., & Escobedo, O.G. (1996). *Tablas de Composición de Alimentos*. México: Subdirección de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos, Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán.
- Brereton, R.G. (2007). *Applied Chemometrics for Scientists*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. 379 pp.
- Bureau, S., Ruiz, D., Reich, M., Gouble, B., Bertrand, D., Audergon, J.-M., & Renard, C.M.G.C. (2009). Application of ATR-FTIR for a rapid and simultaneous determination of sugars and organic acids in apricot fruit. *Food Chemistry*, 115, 1133–1140.
- Cakli, S., Kilinc, B., Cadun, A., Dincer, T., & Tolasa, S. (2007). Quality differences of whole ungutted sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) while stored in ice. *Food Control*, 18, 391–397.
- Castañeda-Pérez, E., Osorio-Revilla, G., Gallardo-Velazquez, T., & Proal-Nájera, J.B. (2013). Use of FTIR-HATR coupled to multivariate analysis to monitor the degradation of bioactive compounds during drying of red pepper. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12, 193-204.
- Castro, G.M.I., Montañó, B.S., & Pérez-Gil, R.F. (2001a). Ácidos grasos en sardina en salsa de tomate de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 51, 400-406.
- Castro, G.M.I., Montañó, B.S., & Pérez-Gil, R.F. (2001b). Ácidos grasos del atún de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano, en aceite y agua. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 51, 407-413.

- Castro-González, M.I., Ojeda, V.A., Montaña, S., Ledesma, C.H., & Pérez-Gil, R.F. (2007). Evaluación de los ácidos grasos n-3 de 18 especies de pescados marinos mexicanos como alimentos funcionales. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57, 136-144.
- Castro-González, M.I., Ojeda, V.A., Silencio, J.L., Cassis, L., Ledesma, H., & Pérez-Gil, R.F. (2004). Perfil lipídico de 25 pescados marinos mexicanos con especial énfasis en sus ácidos grasos n-3 como componentes nutraceuticos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54, 328-336.
- CEC, Commission of the European Community. (1995). *Decision 95/149/EC of 8 March 1995 fixing the total volatile basic nitrogen (TVB-N) limit values for certain categories of fishery products and specifying the analysis methods to be used*. Brussels: CEC.
- Cheng, J.-H., Dai, Q., Sun, D.-W., Zeng, X.-A., Liu, D., & Pu, H.-B. (2013). Applications of non-destructive spectroscopic techniques for fish quality and safety evaluation and inspection. *Trends in Food Science & Technology*, 34, 18-31.
- Cifuentes, L.J.L., Torres-García, P., & Frías, M.M. (1995). Derivados de los productos pesqueros. La harina, el aceite de pescado y otros. En M.C. Farías (Ed.), *El océano y sus recursos IX*, 2ª edición. México: Fondo de cultura económica.
- Cifuentes, L.J.L., Torres-García, P., & Frías, M.M. (1997). Pesquería del atún. En M.C. Farías (Ed.), *El océano y sus recursos X*, 2ª edición. México: Fondo de cultura económica.
- Coleman, P. & Williams, J. Jr. (2007). Antioxidants: Scratching the surface in functional foods. *Food Product Design*. September 2007, supplement to *Food Product Design*, 13-19.
- CONAPESCA, Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. (2011). *Anuario estadístico de acuacultura y pesca 2011*. México: CONAPESCA, SAGARPA.
- CONAPESCA, Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. (2012). *Anuario estadístico de acuacultura y pesca 2012*. México: CONAPESCA, SAGARPA. Disponible en: [http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario\\_2012\\_zip](http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario_2012_zip)
- Connell, J.J. (1990). Methods of assessing and selecting for quality. In J.J. Connell (Ed.), *Control of fish quality*, 3rd edition. Oxford, UK: Fishing News Books. pp. 122–150.
- Connell, J.J. (1995). *Control of fish quality*, 4th Ed. London, UK: Fishing News Books Ltd.
- Connor W.E. & Connor, S.L. (2010). N–3 Fatty Acids from Fish and Plants: Primary and Secondary Prevention of Cardiovascular Disease (Ch. 10). In A. Bendich & R.J.

- Deckelbaum (Eds.), *Preventive Nutrition. The comprehensive guide for health professionals*, 4th edition. New York, USA: Humana Press-Springer.
- Cozzolino, D., Chree, A., Scaife, J.R., & Murray, I. (2005). Usefulness of near-infrared reflectance (NIR) spectroscopy and chemometrics to discriminate fishmeal batches made with different fish species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4459-4463.
- Cozzolino, D., Murray, I., & Scaife, J.R. (2002). Near infrared reflectance spectroscopy in the prediction of chemical characteristics of minced raw fish. *Aquaculture Nutrition*, 8, 1–6.
- Dalgaard, P. (1993). *Evaluation and prediction of microbial fish spoilage*. Ph. D. thesis. The Technological Laboratory of the Danish Ministry of Fisheries and the Royal Veterinary and Agricultural University. Denmark.
- De Fuentes, N.M., Bosch, O.C., & Sánchez, R.F. (2008). Aplicación de la Espectroscopia del Infrarrojo Medio en Química Analítica de Procesos. *Boletín de la Sociedad Química de México*, 2, 93-103. Disponible en: <http://www.bsqm.org.mx/PDFS/V2/N3/1-Fuentes%20Navarta.pdf>
- De Meester, F. & Watson, R.R. (2008). Wild-type food in health promotion and disease prevention (Ch.15 and 21). New Jersey, USA: Humana Press-Springer.
- Del-Moral, S.R.J. & Vaca, R.J.G. (2009). Administración de la pesquería del atún aleta azul en Baja California. Una visión global. *Frontera Norte*, 21, 151-175. Disponible en: <http://www.colef.mx/fronteranorte/articulos/FN41/7-f41.pdf>
- Diraman, A., & Dibeklioglu, H. (2009). Chemometric Characterization and Classification of Selected Freshwater and Marine Fishes from Turkey Based on their Fatty Acid Profiles. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 86, 235–246.
- Dray, S., & Dufour, A. (2007). The ade4 package implementing the duality diagram for ecologist. *Journal of Statistical Software*, 22, 1-20.
- Durazo, B.E. (2006). Aprovechamiento de los productos pesqueros. México: Universidad Autónoma Veracruzana.
- EFSA, European Food Safety Authority. (2010). Scientific opinión on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*, 8, 1461-1568. Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1461.htm>

- Egan, H., Kirk, R.S., & Sawyer, R. (1981). *Pearson's chemical analysis of foods*. Edinburgh, UK: Churchill Livingstone. 535–536 pp.
- Elvingson, P., & Sjaunja, L.O. (1992). Determination of fat, protein and dry matter content of fish by mid-infrared transmission spectroscopy. *Aquaculture Research*, 23, 453–460.
- Erkan, N., & Özden, O. (2008). Quality assessment of whole and gutted sardine (*Sardine pilchardus*) stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1549–1559.
- Erkan, N., Özden, O., Alakavuk, D.U., Yildirim, S.Y., & Inugur, M. (2006). Spoilage and shelf life of sardines (*Sardina pilchardus*) packed in modified atmosphere. *European Food Research and Technology*, 222, 667–673.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. (1995). *Quality and quality changes in fresh fish. Chemical composition*. In H.H. Huss (Ed.). Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/v7180e/V7180E05.htm>
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2004). *The composition of fish*. In J. Murray & J.R. Burt (Eds.). Disponible en: <http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5916e/x5916e01.htm>
- FAO/WHO, Food and Agriculture Organization / World Health Organization. (2008). *Interim summary of conclusions and dietary recommendations on total fat and fatty acids*. Joint FAO/WHO Expert consultation on fats and fatty acids in human nutrition. Geneva. Disponible en: [http://www.who.int/nutrition/topics/FFA\\_interim\\_recommendations/en/](http://www.who.int/nutrition/topics/FFA_interim_recommendations/en/)
- FDA, Food and Drug Administration. (2004). *FDA announces qualified health claims for omega-3 fatty acids*. Disponible en: <http://www.fda.gov/siteindex/ucm108351.htm>
- Fernandez, J., Perez-Álvarez, J.A., & Fernandez-López, J.A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, 59, 345–353.
- Ferrand, M., Huquet, B., Barbey, S., Barillet, F., Faucon, F., Larroque, H., Leray, O., Trommenschlager, J.M., & Brochard, M. (2011). Determination of fatty acid profile in cow's milk using mid-infrared spectrometry: Interest of applying a variable selection by genetic algorithms before a PLS regression. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 106, 183–189.
- FMNH, Florida Museum of Natural History. (2013a). Susie Gardieff (Ed.). Disponible en: <https://www.flmnh.ufl.edu/fish/Gallery/Descript/BluefinTuna/BluefinTuna.html>

- FMNH, Florida Museum of Natural History. (2013b). Michell Press (Ed.). Disponible en: <http://www.flmnh.ufl.edu/fish/Gallery/Descript/SpanishMackerel/SpanishMackerel.html>
- FMNH, Florida Museum of Natural History. (2013c). Tina Perrotta (Ed.). Disponible en: <https://www.flmnh.ufl.edu/fish/Gallery/Descript/CrevalleJack/CrevalleJack.html>
- Food Standards Agency, FSA. (2004). What's an oily fish?. Disponible en: <http://tna.europarchive.org/20110116113217/http://www.food.gov.uk/news/newsarchive/2004/jun/oilyfishdefinition>
- Folch, J., Less M., & Sloane-Stanley, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.
- Folkestad, A., Wold, J.P., Rørvik, K.A., Tschudi, J., Haugholt, K.H., Kolstad, K., & Mørkøre, T. (2008). Rapid and non-invasive measurements of fat and pigment concentrations in live and slaughtered Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 280, 129–135.
- Frankel, E.N. (2005). *Lipid Oxidation*, 2nd edition. Bridgewater, England: The Oily Press, PJ Barnes & Associates.
- Gallardo-Velázquez, T., Osorio-Revilla, G., Zuñiga-de Loa, M., & Rivera-Espinoza Y. (2009). Application of FTIR-HATR spectroscopy and multivariate analysis to the quantification of adulterants in Mexican honeys. *Food Reserch International*, 42, 313-318.
- Galvis-Sánchez, A.C., Tóth, I.V., Portela, A., Delgadillo, I., & Rangel, A.O.S.S. (2011). Monitoring sodium chloride during cod fish desalting process by flow injection spectrometry and infrared spectroscopy. *Food Control*, 22, 277-282.
- Garaffo, M.A., Vassallo-Agius, R., Nengas, Y., Lembo, E., Rando, R., Maisano, R., Dugo, G., & Giuffrida, D. (2011). Fatty Acids Profile, Atherogenic (IA) and Thrombogenic (IT) Health Lipid Indices, of Raw Roe of Blue Fin Tuna (*Thunnus thynnus* L.) and Their Salted Product "Bottarga". *Food and Nutrition Sciences*, 2, 736-743.
- García-González, D.L., Baeten, V., Fernández-Pierna, J.A., & Tena, N. (2013). Infrared, Raman, and Fluorescence Spectroscopies: Methodologies and Applications (Ch.10). In R. Aparicio & J. Harwood (Eds.), *Handbook of Olive Oil*, 2<sup>a</sup> edition. London: Springer.

- Guzmán-Murillo, M.A. & Ascencio, F. (2006). Alimentos de origen marino (Cap. 8). En M.R. Torres-Vitela & A. Castillo-Ayala (Eds.), *Microbiología de los alimentos*. México: Universidad de Guadalajara.
- Goulas, A.E., & Kontominas, M.G. (2007). Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 100, 287–296.
- Gram, L. & Huss, H.H. (2000). Fresh and processed fish and shellfish. In B.M. Lund, T.C. Baird-Parker, & G.W. Gould (Eds), *The Microbiological Safety and Quality of Food* (Vol. 1 y 2). Maryland: Aspen Publishers Inc.-Springer-Verlag.
- Gram, L., & Huss, H.H. (1996). Microbial spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 121–138.
- Grigorakis, K. (2007). Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: A review. *Aquaculture*, 272, 55–75.
- Guillén, M.D., & Cabo, N. (1997). Characterization of Edible Oils and Lard by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Relationships Between Composition and Frequency of Concrete Bands in the Fingerprint Region. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 74, 1281-1286.
- Hebard, C.E., Flick, G.J. & Martin, R.E. (1982). Occurrence and significance of trimethylamine oxide and its derivatives in fish and shellfish. In R.E. Martin, G.J. Flick & C.E. Hebard (Eds.), *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*. Westport, CT, USA: AVI publishing company, 149-304 pp.
- Hernández-Martínez, D.M. (2010a). *Desarrollo de métodos quimiométricos mediante espectroscopia MID-FTIR-ATR para cuantificar parámetros químicos y perfil de ácidos grasos cis y trans en margarinas*. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. 157 pp. México.
- Hernández-Martínez, M., Gallardo-Velázquez, T., Osorio-Revilla, G. (2010b). Rapid characterization and identification of fatty acids in margarines using horizontal attenuate total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy (HATR-FTIR). *European Food Research and Technology*, 231, 321–329.
- Higgs, J.D. (2000). The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 85-95.
- Hozbor, M.C., Saiz, A.I., Yeannes, M.I., & Fritz, R. (2006). Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon

- (*Pseudoperca semifasciata*). *Lebensmittel- Wissenschaft und-Technologie–Food Science and Technology*, 39, 99–104.
- Hu, X., Toyoda, K., Yamanoue, M., Ihara, I. & Nakai, K. (2010). Evaluation of Fatty Acid Profile of Wagyu Beef by ATR-FTIR Spectroscopy. *Food and Bioprocess Technology*, 3, 883–891.
- Huang, Y., Cavinato, A.G., Mayes, D.S., Bledsoe, G.E., and Rasco, B.A. (2003). Nondestructive Determination of Moisture and Sodium Chloride in Cured Atlantic Salmon (*Salmo salar*) (Teijin) Using Short-wavelength Near-infrared Spectroscopy (SW-NIR). *Journal of Food Science*, 68, 482-486.
- Huss, H.H. (1999). *El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad*. Dinamarca: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 202 pp.
- ISSFAL, International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids. (2004). Citado en: Bell, J.G. & Waagbø, R. (2008). Safe and nutritious aquaculture produce: benefits and risks of alternative sustainable aquafeeds. In M. Holmer, *et al.* (Eds.), *Aquaculture in the ecosystem* (pp. 185-225). Netherlands: Springer.
- IUPAC, International Union of Pure and Applied Chemistry. (1992). *Preparation of the fatty acid methyl esters. Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives* (7th ed.). Method 2.301. Oxford, UK: Pergamon.
- Jones, P.D, Schimleck, L.R., Daniels, R.F., Clark, A., Purnell, R.C. (2008). Comparison of *Pinus taeda* L. whole-tree wood property calibrations using diffuse reflectance near infrared spectra obtained using a variety of sampling options. *Wood Science Technology*, 42, 385–400.
- Kang, J.X. (2008). Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio is Important for Health. In. F.De Meester & R.R Watson (Eds). *Wild-type food in health promotion and disease prevention*. New Jersey, USA: Humana Press-Springer.
- Karoui, R., Downey, G., & Blecker, C. (2010). Mid-Infrared Spectroscopy Coupled with Chemometrics: A Tool for the Analysis of Intact Food Systems and the Exploration of Their Molecular Structure-Quality Relationships - A Review. *Chemical Reviews*, 110, 6144–6168.
- Karoui, R., Lefur, B., Grondin, C., Thomas, E., Demeulemester, C., De Baerdemaeker, J., & Guillard. A.S. (2007). Mid-infrared spectroscopy as a new tool for the evaluation of fish freshness. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 57–64.

- Kelley, R.H. & Yancey, P.H. (1999). High contents of trimethylamine oxide correlating with depth in deep-sea teleost fishes, skates, and decapod crustaceans. *Biology Bulletin*, 196, 18-25.
- Keys, A., Menotti, A., & Karvonen, M. (1986). The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *The American Journal of Epidemiology*, 124, 903-915.
- Khodabux, K., L'Omelette, M.S.S., Jhaumeer-Laulloo, S., Ramasami, P., & Rondeau, P. (2007). Chemical and near-infrared determination of moisture, fat and protein in tuna fishes. *Food Chemistry*, 102, 669–675.
- Kramer, K., & Tseng, C.-H., Ma, K. (2013). Measuring the levels of EPA and DHA in nutraceutical oils (Ch.10). In F. De Meester, R.R.Watson, S. Zibadi (Eds.), *Omega-6/3 fatty acids. Functions, Sustainability Strategies and Perspectives*. New Jersey, USA: Humana Press-Springer.
- Kraus, L. (1992). Refrigerated sea water treatment of herring and mackerel for human consumption. In J. Burt, R. Hardy, & K. Whittle (Eds.). *Pelagic fish. The resource and its exploitation* (pp. 73–81). Aberdeen, Scotland (UK): Fishing News Books.
- Kris-Etherton, P.M., Harris, W.S. & Appel, L.J. (2003). Fish consumption: fish oil, omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 23, 20–31.
- Kyranas, V.R., Lougovois, V.P., & Valsamis, D.S. (1997). Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 32, 339–347.
- Lioka C., Kani K., & Nhhala, H. (2000). Present status and prospects of technical development of tuna sea-farming. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 47, 275-285.
- Lombardo, Y., & Chicco, A.G. (2006). Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 17, 1–13.
- Lucano-Ramírez, G., Ruiz-Ramírez, S., Palomera-Sánchez, F.I., González-Sansón, G. (2011). Reproductive biology of the Pacific sierra *Scomberomorus sierra* (Pisces, Scombridae) in the central Mexican Pacific. *Ciencias Marinas*, 37, 249-260. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/ciemar/v37n3/v37n3a1.pdf>
- Macho, S. (2002). *Metodologías analíticas basadas en Espectroscopia de Infrarrojo y Calibración Multivariante. Aplicación a la Industria Petroquímica*. Tesis doctoral. Universidad Rovita. 218 pp. Tarragona, España.

- Mahesar, S.A., Sherazi, S.T.H., Kandhro, A.A., Bhanger, M.I., Khaskheli, A.R., & Talpur, M.Y. (2011). Evaluation of important fatty acid ratios in poultry feed lipids by ATR FTIR Spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 57, 177– 181.
- Malle, P., & Poumeyrol, M. (1989). A new chemical criterion for the quality control of fish: trimethylamine/total volatile basic nitrogen (%). *Journal of Food Protection*, 52, 419–423.
- Martelli, R., Zotte, A.D., Bonelli, A., Lupi, P., Franci, O., & Parisi, G. (2013). Macronutrient and fatty acid profiles of meagre (*Argyrosomus regius*) fillets as influenced by harvesting time and boiling. *Italian Journal of Animal Science*, 12, 538-545.
- Meng, X., Pan, Q., Ding, Y., & Jiang, L. (2014). Rapid determination of phospholipid content of vegetable oils by FTIR spectroscopy combined with partial least-square regression. *Food Chemistry*, 147, 272–278.
- Mensink, R.P., Zock, P.L., Kester, A.D.M., & Katan, M.M. (2003). Effects of dietary fatty acids and carbohydrate on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77, 1146– 1155.
- Meza-Márquez, O.G., Gallardo-Velázquez, T., Osorio-Revilla, G. (2010). Application of mid-infrared spectroscopy with multivariate analysis and soft independent modeling of class analogies (SIMCA) for the detection of adulterants in minced beef. *Meat Science*, 86, 511–519.
- Miller, J.N., & Miller, J.C. (2002). Estadística y quimiometría para química analítica. 4ª edición. Madrid, España: Pearson Educación, S.A. 278 pp.
- Munategui, S., Paseiro, P., & Simal, J. (1992). Medida del grado de insaturación de aceites y grasas comestibles por espectroscopia infrarroja y su relación con el índice de iodo. *Grasas y Aceites*, 43, 1-5. Disponible en: <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/viewArticle/1188>
- Muñoz, C.M., Ledesma, S.J.A., Chavez, V.A., Pérez-Gil, R.F., Mendoza, M.E., Calvo, C., Castro, G.M.I., Sánchez, C.C., & Avila, C.A. (2010). *Los Alimentos y sus Nutrientes. Tablas de Valor Nutritivo de Alimentos*. México: McGraw-Hill Interamericana.
- Murillo, E., Rao, K.S., & Durant, A.A. (2014). The lipid content and fatty acid composition of four eastern central Pacific native fish species. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33, 1–5.

- Nasopoulou, C., Nomikos, T., Demopoulos, C.A., & Zabetakis, I. (2007). Comparison of antiatherogenic properties of lipids obtained from wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Food Chemistry*, 100, 560–567.
- Nawar, W.W. (1996). Lipids. In O.R. Fennema (Ed.). *Food Chemistry*. New York: Marcel Dekker.
- Olsen, E.F., Rukke, E.O., Egelanddal, B., & Isaksson, T. (2008) Determination of omega-6 and omega-3 fatty acids in pork adipose tissue with nondestructive Raman and Fourier transform infrared spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 62, 968-974.
- Papadopoulou, O., Panagou, E.Z., Tassou, C.C. & G.-J.E. Nychas. (2011). Contribution of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy data on the quantitative determination of minced pork meat spoilage. *Food Research International*, 44, 3264-3271.
- Pearson, D. (1976). *The Chemical Analysis of Foods*, (7<sup>th</sup> ed). London: Churchill Livingstone.
- Pérez-Jiménez, F. & Lopez-Miranda, J., Mata, P. (2002). Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: beyond cholesterol. *Atherosclerosis*, 163, 385-398.
- PerkinElmer. (2000). *Spectrum Quant+ Tutorial*. Version 4.51.02. PerkinElmer, Inc.
- Piccolo, G., deRiu, N., Tulli, F., Cappuccinelli, R., Marono, S., & Moniello, G. (2007). Somatic indexes, chemical-nutritive characteristics and metal content in caught and reared sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*). *Italian Journal of Animal Science*, 6, 351-360.
- Pietinen, P., Ascherio, A., & Korhonen, P. (1997). Intake of fatty acids and risk of coronary heart disease in a cohort of Finnish men. The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *The American Journal of Epidemiology*, 145, 876-887.
- Pink, J., Naczki, M., & Pink, D. (1998). Evaluation of the Quality of Frozen Minced Red Hake: Use of Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3667- 3672.
- Piña-Barrera, A., Meza-Márquez, O.G., Osorio-Revilla, G., & Gallardo-Velázquez, T. (2014). Identification and quantification of corncob as adulterant in corn dough and tortilla by MIR–FTIR spectroscopy and multivariate analysis. *CyTA- Journal of Food*, 12, 65-72.

- Pirini, M., Testi, S., Ventrella, V., Pagliarani, A., & Badiani, A. (2010). Blue-back fish: Fatty acid profile in selected seasons and retention upon baking. *Food Chemistry*, 123, 306–314.
- Pons, S.C.S. (2005). *Estudio de alternativas para la evaluación de la frescura y la calidad del boquerón (Engraulis encrasicolus) y sus derivados*. Tesis doctoral. Universitat de Barcelona. 271 pp. Barcelona, España.
- Porcel, G.M. (2001). *Aplicación de técnicas quimiométricas para el desarrollo de nuevos métodos cinético – espectrofotométricos de análisis*. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. 129 pp. España.
- Prato, E. & Biandolino, F. (2012). Total lipid content and fatty acid composition of commercially important fish species from the Mediterranean, Mar Grande Sea. *Food Chemistry*. 131, 1233–1239
- Quitral, V., Donoso, M.L., Ortiz, J., Herrera, M.V., Araya, H., & Aubourg, S.P. (2009). Chemical changes during the chilled storage of Chilean jack mackerel (*Trachurus murphyi*): Effect of a plant-extract icing system. *Food Science and Technology*, 42, 1450–1454.
- R Core Team. (2012). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Disponible en: <http://www.R-project.org/>.
- Ragno, G., Ioele, G., & Risoli, A. (2004). Multivariate calibration techniques applied to the spectrophotometric analysis of one-to-four component systems. *Analytica Chimica Acta*, 512, 173 – 180.
- Ramanathan, L., & Das, N.P. (1992). Studies on the control of lipid oxidation in ground fish by some polyphenolic natural products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 17–21.
- Reid, L.M., O'Donnell, C.P., & Downey, G. (2006). Recent technological advances for the determination of food authenticity. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 344 – 353.
- Rios-Corripio, M.A., Rojas-López, M., & Delgado-Macuil, R. (2012). Analysis of adulteration in honey with standard sugar solutions and syrups using attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate methods. *CyTA-Journal of Food*, 10, 119-122.

- Rodríguez, O., Losada, V., Aubourg, S., & Barros-Velázquez, J. (2005). Sensory, microbial and chemical effects of a slurry ice system on horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 235–242.
- Rodríguez-Casado, A., Carmona, P., Moreno, P., Sánchez-González, I., Macagnano, A., Di Natale, C., & Careche, M. (2007). Structural changes in sardine (*Sardina pilchardus*) muscle during iced storage: Investigation by DRIFT spectroscopy. *Food Chemistry*, 103, 1024–1030.
- Rohman, A., & Che Man, Y.B. (2011). Analysis of chicken fat as adulterant in cod liver oil using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and chemometrics. *CyTA-Journal of Food*, 9, 187-191.
- Rueda, F.M., López, F.J., Martínez, F.J., & Zamora, S. (1997). Fatty acids in muscle of wild and farmed red porgy, *Pagrus pagrus*. *Aquaculture Nutrition*, 3, 161–165.
- Ruiz-Capillas, C., & Moral, A. (2005). Sensory and biochemical aspects of quality of whole bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. *Food Chemistry*, 89, 347-354.
- Sallam, K.I. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18, 566-575.
- Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., & Santos-Silva, F. (2002). Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. *Livestock Science*, 77, 187–194.
- Se-Kwon, K. (2014). *Seafood Processing By-Products. Trends and Applications*. Springer: New York. 597 pp.
- Selmi, S. & Sadok, S. (2008). The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris Linnaeus*) on flesh quality of tuna (*Thunnus thynnus* (Linnaeus)) during chilled storage. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3, 32-35.
- Senso, L., Suárez, M. D., Ruiz-Cara, T., & García-Gallego, M. (2007). On the possible effects of harvesting season and chilled storage on the fatty acid profile of the fillet of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Food Chemistry*, 101, 298–307.
- Shantha, N., & Decker, E. (1994). Rapid, Sensitive, Iron-Based Spectrophotometric Methods for Determination of Peroxide Values of Food Lipids. *Journal of AOAC International*, 77, 421-424.
- Shenk, J.S., & Westerhaus, M.O. (1994). The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In G. C. Fahey, M. Collins, D. R. Mertens, &

- L. E. Moser (Eds.), *Forage quality, evaluation and utilization*, (406–449 pp). Nebraska, USA: Crop Science Society of America.
- Shenk, J.S., & Westerhaus, M.O. (1995). *Analysis of agriculture and food products by near infrared reflectance spectroscopy*, Monograph. Maryland, USA: NIRSystems.
- Shenk, J.S., & Westerhaus, M.O. (1996). Calibration the ISI way. In: A.M.C. Davies & P.C. Williams (Eds.), *Near infrared spectroscopy*. Chichester, UK: NIR Publications.
- Sherazi, S.T.H., Talpur, M. Y., Mahesar, S.A., Kandhro, A.A., & Arain, S. (2009). Main fatty acid classes in vegetable oils by SB-ATR-Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Talanta*, 80, 600–606.
- Shewan, J.M. (1962). The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. In J. Hawthorn & J. Muil Leitch (Eds.), *Recent Advances in Food Science*, 1, 1167-193.
- Shimamoto, J., Hasegawa, K., Sato, M., & Kawano, S. (2004). Non-destructive determination of fat content in frozen and thawed mackerel by near infrared spectroscopy. *Fisheries Science*, 70, 345 – 347.
- Silencio-Barrita, J.L. (2003). *Variación estacional de los ácidos grasos en sardina (Opisthonema libertate)*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Silverstein, R. M., Bassler, G.C., & Kiemle, D.J. (2005). *Spectrometric identification of organic compounds* (Ch. 2), 7th ed. New Jersey, USA: John Wiley & Sons.
- Simopoulos, A.P. (1999). Essential fatty acids in health and chronic disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 560S-569S.
- Sinelli, N., Spinardi, A., Di Egidio, V., Mignani, I., & Casiraghia, E. (2008). Evaluation of quality and nutraceutical content of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) by near and mid-infrared spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 50, 31–36.
- Sinn, N., Milte, C., & Howe, P.R.C. (2009). From ADHD to Alzheimer's: omega-3 fatty acids and mental health. In: Watson, R.R. (Ed.), *Fatty Acids in Health Promotion and Disease Causation*, (pp. 611–642). Illinois, USA: AOCS Press.
- Sinnaeve, G., Dardenne, P., Agneessen, R., & Biston, R. (1994). The use of near infrared spectroscopy for the analysis of fresh grass silage. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2, 79–84.
- Socrates, G. (2001). *Infrared and Raman characteristic groups frequencies. Tables and charts*. Chichester, UK: John Wiley and Sons.

- Soriano, A., Pérez-Juan, P.M., Vicario, A., González, J.M., & Pérez-Coello, M.S. (2007). Determination of anthocyanins in red wine using a newly developed method based on Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 104, 1295-1303.
- Soriano, R.A.S., Aliaga, DeL. F., Guerra, C.G., Barros M.L.R., & Bragagnolo, N. (2011). Effect of annatto seed and coriander leaves as natural antioxidants in fish meatballs during frozen storage. *Journal of Food Science*, 76, C838-C845.
- Sprague, M., Dick, J.R., Medina, A., Tocher, D.R., Bell, J.G., Mourente, G. (2012). Lipid and fatty acid composition, and persistent organic pollutant levels in tissues of migrating Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*, L.) broodstock. *Environmental Pollution*, 171, 61-71.
- SSA, Secretaría de Salud. (1993). *NOM-027-SSA1-1993. Norma Oficial Mexicana para los productos de la pesca. Pescados frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias*. México: Dirección General de Normas.
- Stancheva, M., Merdzhanova, A., Dobрева, D.A., & Makedonski, L. (2014). Common carp (*Cyprinus caprio*) and European catfish (*Sillurus glanis*) from the Danube River as sources of fat soluble vitamins and fatty acids. *Czech Journal of Food Sciences*, 32, 16-24.
- Stansby, M.E. & Hall A.S. (1967). Chemical composition of commercially important fish of the USA. *Fish Ind Res.*, 3, 29-34.
- Maylet, me parece que estas escribiendo el nombre de la revista de cada referencia de manera complete no abreviada y en esta creo que aparece en forma abreviada, eso se tendría que homogeneizar.
- Suárez, M.D. & Rincón, C.M.A. (2010). Influence of Starvation on Flesh Quality of Farmed Dentex, *Dentex dentex*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41, 490-505.
- Sun, D.W. (2009). *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*. Amsterdam, Holanda: Elsevier. 424p.
- Trygg, J., Gullberg, J., Johansson, A.I., Jonsson, P., & Moritz, T. (2006). Chemometrics in Metabolomics - An Introduction. In K. Saito, R.A. Dixon, L. Willmitzer (Eds.), *Plant Metabolomics*. Berlin, Heidelberg: Springer. 347 pp.
- Uddin, M., Okazaki, E., Fukushima, H., Turza, S., Yumiko, Y., & Fukuda, Y. (2006). Nondestructive determination of water and protein in surimi by near-infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 96, 491–495.
- Ulbricht, T.L.V., & Southgate, D.A.T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*, 338, 985–992.

- Valfré, F., Caprino, F., & Turchini, G.M. (2003). The health benefit of seafood. *Veterinary Research Communications*, 27, 507–512.
- Varmuza, K. & Filzmoser, P. (2009). Introduction to Multivariate Statistical Analysis in Chemometrics. FL, USA: CRC Press-Taylor & Francis Group.
- Venugopal, V. (2002). Biosensors in fish production and quality control. *Biosensors & Bioelectronics*, 17, 147–157.
- Whittle, K., Hardy, R., & Hobbs, G. (1990). Chilled fish and fishery products. In T. Gormley (Ed.), *Chilled foods. The state of the art*, (pp. 87–116). New York (USA): Elsevier Applied Science.
- Williams, P.C. (2001). Implementation of near-infrared technology. In P. Williams & K. Norris (Eds), *Near-infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*, 2nd edn. Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists, pp. 145-169.
- Wu, D., Chen, W., Cao, F., Sun, D.W., He, Y., & Jiang, Y. (2014). Comparison of Infrared Spectroscopy and Nuclear Magnetic Resonance Techniques in Tandem with Multivariable Selection for Rapid Determination of  $\omega$ -3 Polyunsaturated Fatty Acids in Fish Oil. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 1555-1569.
- Xiccato, G., Trocino, A., Tulli, F., & Tibaldi, E. (2004). Prediction of chemical composition and origin identification of European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Food Chemistry*, 86, 275–281.
- Zhang, Q., Liu, C., Sun, Z., Hu, X., Shen, Q., & Wu, J. (2012). Authentication of edible vegetable oils adulterated with used frying oil by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Food Chemistry*, 132, 1607–1613.

# ANEXOS

“Y una vez que la tormenta termine, no recordarás como lo lograste,  
como sobreviviste. Ni siquiera estarás seguro si la tormenta  
ha terminado realmente. Pero una cosa sí es segura.

Cuando salgas de esa tormenta, no serás la  
misma persona que entró en ella.

De eso se trata esta tormenta”

Haruki Murakami

(1949- ) Escritor y traductor japonés

## ANEXO 1

Características de los materiales utilizados en cristales ATR.

Material	Índice de refracción	pH de uso seguro	Otras características
Seleniuro de Zinc (ZnSe)	2.4	5-9	Para propósitos generales. Es el material más asequible. Su superficie puede ser atacada por ácidos y álcalis fuertes.
AMTIR (As/Se/Ge)	2.5	1-9	Puede ser usado con ácidos fuertes.
Germanio (Ge)	4.0	1-14	Se utiliza en el análisis de muestras con un alto índice de refracción.
Silicio (Si)	3.4	1-12	Lo afectan sólo oxidantes fuertes. Resiste choques térmicos. Es muy duro, por lo que resiste abrasivos. Rango espectral limitado ( $>1500\text{ cm}^{-1}$ ).
Yoduro de talio (KRS-5)	2.37	5-8	Con aplicaciones similares al ZnSe. Es tóxico. Se puede rayar o deformar fácilmente. Es ligeramente soluble en agua.
Diamante	2.4	1-14	Idea para muestras duras, ácidos y álcalis.

Fuente: Pike Technologies. (2005). *Horizontal Attenuated Total Reflectance Accessory for FTIR Spectrometers*. Installation and user guide manual.

## ANEXO 2

Cuadro de factores de conversión de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) a ácidos grasos o a equivalentes de triacilglicerol (AOAC, 2002).

**Table 996.06E Factors ( $f_{TG}$ ) for conversion of FAMES to triglyceride equivalents**

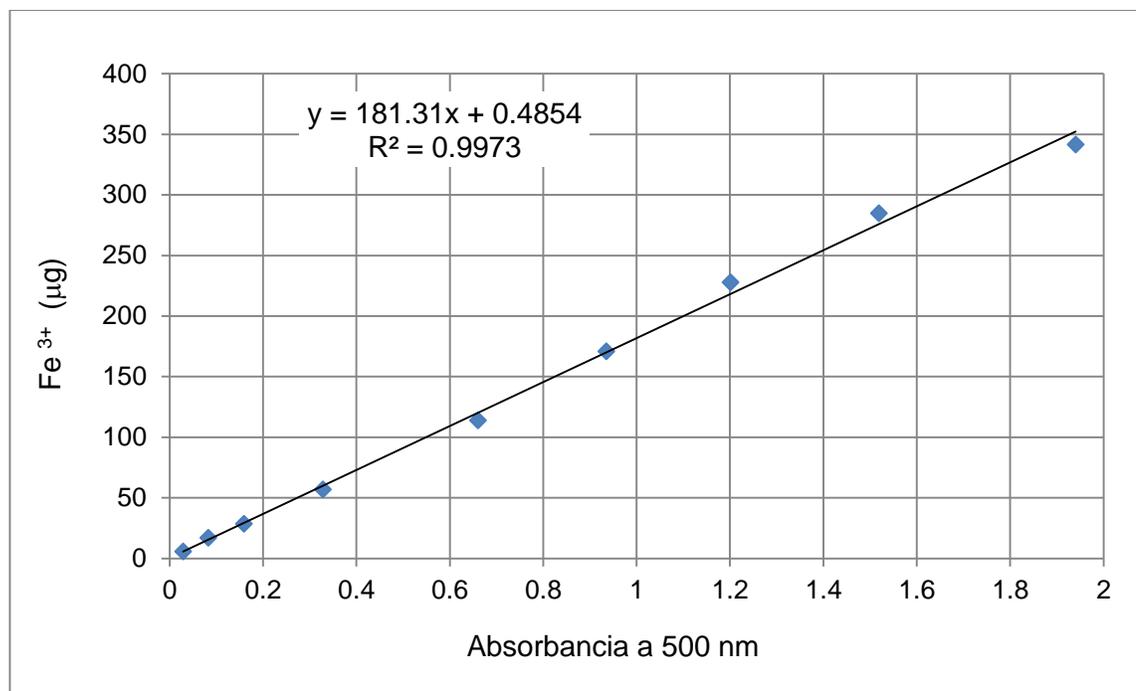
Fatty acid	$F_{AI}$ <sup>a</sup>	TriFAME ( $F_{TG}$ ) <sup>b</sup>
4:0 Butyric	0.8627	0.9868
6:0 Caproic	0.8923	0.9897
8:0 Caprylic	0.9114	0.9915
10:0 Capric	0.9247	0.9928
11:0 Undecanoic	0.9300	0.9933
12:0 Lauric	0.9346	0.9937
13:0 Tridecanoic	0.9386	0.9941
14:0 Myristic	0.9421	0.9945
14:1 Tetradecenenoic	0.9417	0.9944
15:0 Pentadecanoic	0.9453	0.9948
15:1 Pentadecenoic	0.9449	0.9947
16:0 Palmitic	0.9481	0.9950
16:1 Hexadecenoic	0.9477	0.9950
17:0 Margaric	0.9507	0.9953
17:1 Margaroleic	0.9503	0.9952
18:0 Stearic	0.9530	0.9955
18:1 Octadecenoic	0.9527	0.9955
18:2 Octadecenoic	0.9524	0.9954
18:3 Linolenic	0.9520	0.9954
18:4 Octadectetraenoic	0.9517	0.9954
20:0 Arachidic	0.9570	0.9959
20:1 Eicosenic	0.9568	0.9959
20:2 Eicosadienoic	0.9565	0.9958
20:3 Eicosatrienoic	0.9562	0.9958
20:4 Arachidonic	0.9560	0.9958
20:5 Eicosapentaenoic	0.9557	0.9958
21:0 Heneicosanoic	0.9588	0.9961
22:0 Behenic	0.9604	0.9962
22:1 Docosaenoic	0.9602	0.9962
22:2 Docosadienoic	0.9600	0.9962
22:3 Docosatrienoic	0.9598	0.9961
22:4 Docosatetraenoic	0.9595	0.9961
22:5 Docosapentaenoic	0.9593	0.9961
22:6 Docosahexaenoic	0.9590	0.9961
23:0 Tricosanoic	0.9620	0.9964
24:0 Lignoceric	0.9963	0.9965
24:1 Nervonic	0.9632	0.9965

<sup>a</sup>  $F_{AI}$  is the conversion factor for conversion of FAMES to corresponding fatty acids.

<sup>b</sup>  $F_{TG}$  is the conversion factor for conversion of FAMES to triglycerides for individual fatty acids.

### ANEXO 3

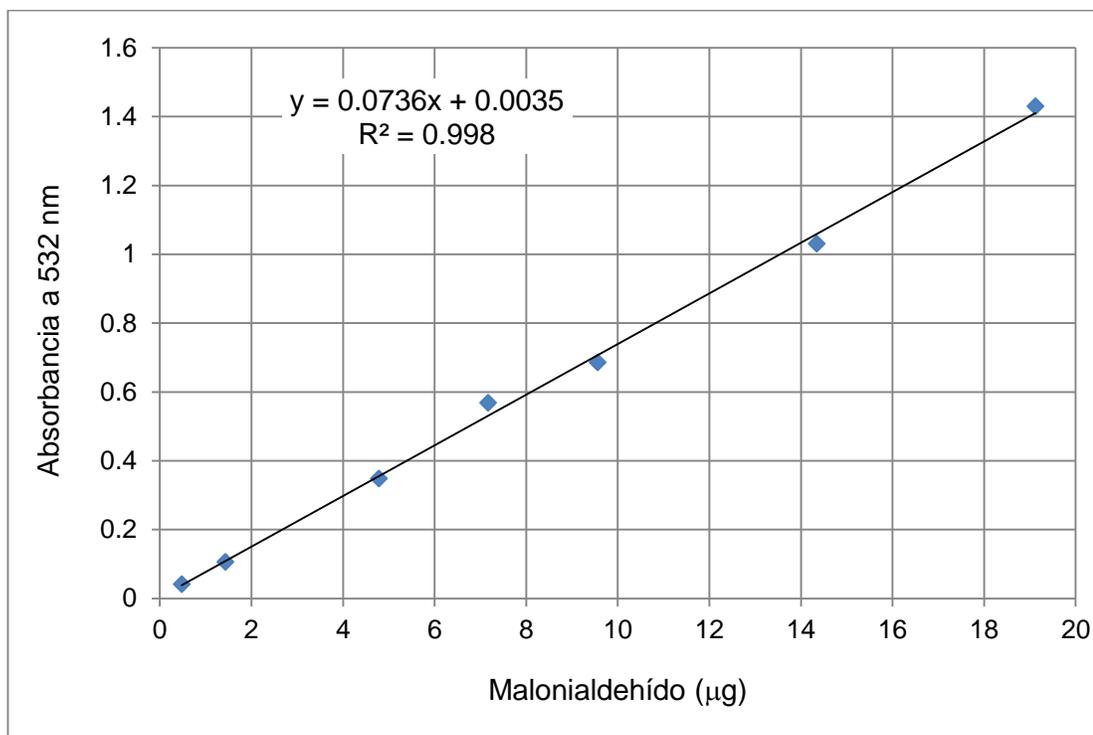
Curva tipo de Fierro (III) vs. Absorbancia para la determinación de peróxidos.



Procedimiento para preparar una solución de cloruro de fierro (III) de concentración 10 μg Fe/ mL. Se realizó de acuerdo a la técnica de Shantha & Decker (2004):

1. Disolver 0.5 g de fierro elemental en polvo en 50 mL de HCl 10 N.
2. Agregar 2 mL de peróxido de hidrogeno al 30%. El exceso de peróxido de hidrógeno es removido por calentamiento de la solución por 5 min.
3. Enfriar la solución y diluir con 500 mL de agua.
4. Diluir 1 mL de la solución anterior en 100 mL de cloroformo-metanol 7:3.
5. Realizar diluciones apropiadas para elaborar la curva tipo de fierro (III).
6. Analizar cada dilución de acuerdo a la técnica de Shantha & Decker (2004) y leer la absorbancia a 500 nm.

Curva tipo de tetraetoxipropano equivalente a malonaldehído (MDA) para la determinación de TBARS.

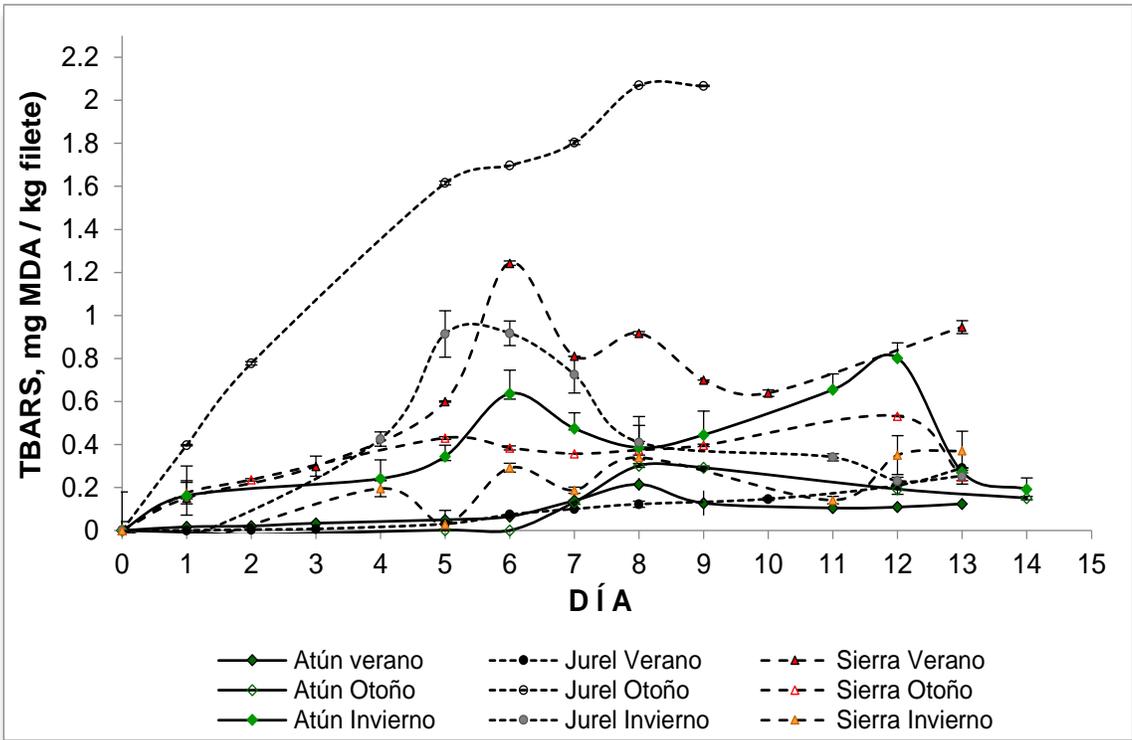
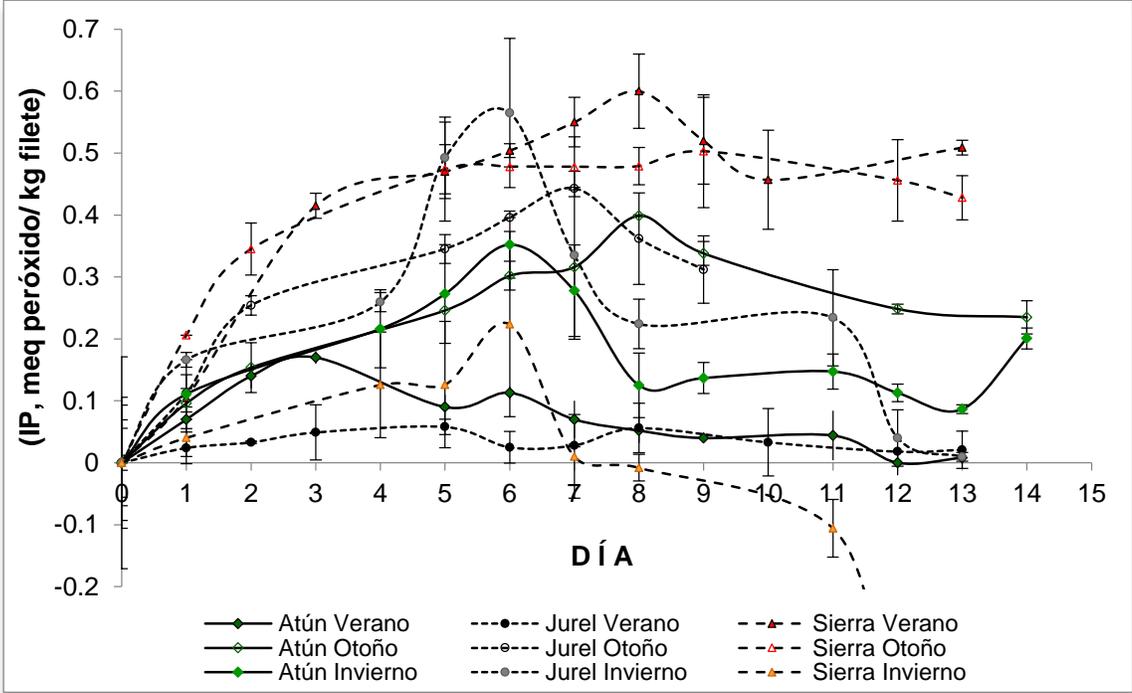


Procedimiento para preparar el estándar de tetraetoxipropano (TEP) equivalente a malonaldehído. Se realizó de acuerdo a la técnica de Botsoglou *et al.* (1994):

1. Pesar 73.2 mg de TEP (o 79.65  $\mu\text{L}$ ) y diluirlos en 10 mL de HCl 0.1 N.
2. Calentar en baño de agua por 5 min para hidrolizar el TEP. Un mol de TEP se desdobla a 2 moles de MDA.
3. Enfriar rápidamente al chorro de agua.
4. Prepara la solución stock de MDA (478.5  $\mu\text{g}$  / mL) disolviendo el hidrolizado en 100 mL de agua.
5. Preparar la solución de trabajo (4.78  $\mu\text{g}$  / mL) disolviendo 1 mL de la solución stock en 100 mL de agua.
6. Realizar diluciones apropiadas para elaborar la curva tipo de MDA.
7. Analizar cada dilución de acuerdo al método de Erkan & Özden (2008) y leer la absorbancia a 532 nm.

**ANEXO 4**

Evolución del índice de peróxido (IP) e índice de TBARS en filetes de de atún aleta azul, jurel y sierra durante su almacenamiento a 0-0.5 °C. Los valores están referidos a los valores iniciales (cero días de almacenamiento) de los lotes.



## ANEXO 5

Resultados del análisis de componentes principales (PCA) de los datos analíticos de composición química, pH e índices de deterioro.

Valores propios de la matriz de correlación.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9
<b>Valor propio</b>	3.350	2.166	1.435	0.927	0.552	0.356	0.132	0.074	0.006
<b>Proporción</b>	0.372	0.241	0.159	0.103	0.061	0.04	0.015	0.008	0.0001
<b>Acumulada</b>	0.372	0.613	0.772	0.875	0.937	0.976	0.991	0.999	1.000

Valores de las cargas (“loadings”) en cada componente principal.

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9
<b>Humedad</b>	0.007	-0.629	0.111	-0.232	0.246	0.257	0.329	0.084	-0.543
<b>Proteína</b>	-0.296	0.365	0.522	0.055	0.017	0.036	-0.393	-0.125	-0.576
<b>Grasa</b>	0.306	0.214	-0.601	0.144	-0.224	-0.234	0.055	-0.006	-0.609
<b>Cenizas</b>	-0.361	-0.263	-0.083	0.381	0.449	-0.664	-0.058	0.051	-0.018
<b>pH</b>	0.367	-0.459	-0.058	-0.016	-0.054	0.012	-0.804	-0.025	0.02
<b>NVT<sup>a</sup></b>	0.427	0.094	0.342	0.418	0.06	0.016	0.082	0.712	-0.018
<b>TMA<sup>b</sup></b>	0.425	-0.114	0.331	0.422	-0.032	-0.081	0.249	-0.67	0.019
<b>IP<sup>c</sup></b>	0.297	0.342	-0.174	-0.124	0.825	0.208	-0.091	-0.131	0.021
<b>TBARS<sup>d</sup></b>	0.319	0.084	0.296	-0.639	-0.011	-0.622	0.079	0.037	-0.005

PC, componente principal; <sup>a</sup> NVT, nitrógeno volátil total; <sup>b</sup> TMA, trimetilamina; <sup>h</sup> IP, índice de peróxido; <sup>i</sup> TBARS, índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico.

## ANEXO 6

Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de atún evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 38 parámetros.

<b>MUESTRA: ATÚN 1 (VERANO)</b>							
<b>Propiedad</b>	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
<b>Composición química (%)</b>							
<b>Humedad</b>	74.92	74.95	0.05	0.37	0.29	0.35	0.78
<b>Proteína</b>	19.70	19.65	-0.23	0.33	0.31	0.37	1.55
<b>Grasa total</b>	3.97	4.36	9.72	0.61	0.76	0.78	0.56
<b>Cenizas</b>	1.42	1.36	-3.96	0.02	0.12	0.29	4.48
<b>pH e índices de deterioro</b>							
<b>pH</b>	5.85	5.85	0.03	0.08	0.83	0.86	0.40
<b>NVT <sup>f</sup></b>	15.00	16.08	7.20	4.16	0.17	0.23	1.50
<b>TMA <sup>g</sup></b>	0.00	ND	NA	1.82	1.19	1.25	0.72
<b>IP <sup>h</sup></b>	0.60	0.61	1.18	0.12	0.86	0.89	2.24
<b>TBARS <sup>i</sup></b>	0.18	0.20	11.11	0.10	0.97	0.98	1.51
<b>Índices nutricionales</b>							
<b>Omega-3/100g filete <sup>j</sup></b>	1.58	1.53	-2.81	0.23	0.22	0.28	3.00
<b>FLQ (%) <sup>k</sup></b>	39.12	39.59	1.20	1.25	0.59	0.59	0.27
<b>IA <sup>l</sup></b>	0.39	0.39	-0.59	0.02	0.54	0.55	0.47
<b>IT <sup>m</sup></b>	0.25	0.25	-0.02	0.02	0.68	0.69	0.42
<b>HH <sup>n</sup></b>	2.40	2.41	0.01	0.08	0.54	0.54	0.43
<b>Ácidos grasos (mg/ 100 g de filete)</b>							
<b>SFA <sup>o</sup></b>	1358	1422	4.71	47.60	0.72	0.74	0.70
<b>MUFA <sup>p</sup></b>	639	701	9.67	153.90	0.58	0.59	2.97
<b>PUFA <sup>q</sup></b>	1974	2046	3.65	25.00	0.49	0.49	2.96
<b>EPA <sup>r</sup> + DHA <sup>s</sup></b>	1608	1627	1.18	16.00	0.43	0.42	2.78
<b>C14:0</b>	53	57	7.55	22.44	0.66	0.69	2.89
<b>C14:1 n-5</b>	14	16	14.29	9.74	0.87	0.94	0.76
<b>C16:0</b>	809	872	7.74	116.30	0.74	0.78	1.88
<b>C16:1 n-7</b>	64	70	8.73	31.55	0.61	0.63	2.93
<b>C18:0</b>	457	448	-2.06	68.61	0.61	0.64	2.40
<b>C18:1 n-7</b>	94	81	-13.83	19.20	0.92	1.13	1.51
<b>C18:1 n-9</b>	410	441	7.59	96.65	0.57	0.58	2.73
<b>C18:2 n-6</b>	62	71	14.76	8.65	0.50	0.51	2.84
<b>C18:3 n-3</b>	22	24	10.55	4.26	0.87	0.93	0.38

Resultados estadísticos de la validación externa de atún 1. Continuación.

Propiedad	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
Ácidos grasos (mg/ 100 g de filete)							
<b>C20:0</b>	20	21	5.10	4.82	0.49	0.49	2.87
<b>C20:1 n-9</b>	55	62	12.73	10.49	0.72	0.54	2.95
<b>C20:2 n-6</b>	30	28	-7.73	4.61	0.75	0.81	2.53
<b>C20:3 n-3</b>	283	306	8.13	0.54	0.96	1.02	3.03
<b>C20:4 n-6</b>	31	35	11.90	4.87	0.69	0.71	2.75
<b>C20:5 n-3 (EPA <sup>f</sup>)</b>	271	298	9.96	55.40	0.64	0.67	2.96
<b>C22:0</b>	7	8	14.29	1.15	0.97	1.05	0.60
<b>C22:1 n-9</b>	14	16	14.86	3.22	0.68	0.72	2.53
<b>C22:6 n-3 (DHA <sup>g</sup>)</b>	1337	1463	9.42	41.10	0.67	0.70	0.61
<b>C24:0</b>	15	15	-0.53	1.49	0.91	0.95	0.63
<b>C24:1 n-9</b>	35	35	0.20	5.85	0.10	0.19	0.70

<sup>a</sup> % RD, porcentaje de diferencia relativa; <sup>b</sup> R-error, error residual (debe ser lo más bajo posible); <sup>c</sup> DM, distancia de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>d</sup> DM total, distancia total de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>e</sup> RR, relación de residuales (debe ser menor a 3); <sup>f</sup> NVT, nitrógeno volátil total (mg N/100 g filete); <sup>g</sup> TMA, trimetilamina (mg N/100 g filete); <sup>h</sup> IP, índice de peróxido (meq peróxido/ kg filete); <sup>i</sup> TBARS, índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (mg MDA / kg filete); <sup>j</sup> Omega-3 /100 g pescado = gramos de (C22:6n-3 + C20:5n-3 + C20:3n-3 + C18:3n-3) /100 g de filete; <sup>k</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado; <sup>l</sup> IA, Índice de aterogenicidad; <sup>m</sup> IT, Índice de trombogenicidad; <sup>n</sup> HH, relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos; <sup>o</sup> SFA, ácidos grasos saturados; <sup>p</sup> MUFA, ácidos grasos monoinsaturados; <sup>q</sup> PUFA, ácidos grasos poliinsaturados; <sup>r</sup> EPA, ácido eicosapentaenóico (C20:5 n-3); <sup>s</sup> DHA, ácido docosahexaenóico (C22:6 n-3); ND = no detectado por el modelo; NA = no aplica.

Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de jurel evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 38 parámetros.

<b>MUESTRA: JUREL 1 (VERANO)</b>							
<b>Propiedad</b>	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
<b>Composición química (%)</b>							
<b>Humedad</b>	77.13	76.79	0.44	0.36	0.97	1.00	1.90
<b>Proteína</b>	18.00	18.67	3.72	0.30	0.38	0.37	0.88
<b>Grasa total</b>	3.08	2.95	-4.22	0.60	0.60	0.61	0.72
<b>Cenizas</b>	1.23	1.23	0.08	0.02	0.70	0.72	1.71
<b>pH e índices de deterioro</b>							
<b>pH</b>	6.85	6.83	-0.34	0.08	0.87	0.91	2.34
<b>NVT <sup>f</sup></b>	24.75	25.46	2.86	4.01	0.30	0.29	0.82
<b>TMA <sup>g</sup></b>	6.25	6.97	11.50	1.82	0.20	1.25	1.86
<b>IP <sup>h</sup></b>	0.70	0.67	-3.51	0.11	0.52	0.52	0.50
<b>TBARS <sup>i</sup></b>	1.39	1.31	-6.31	0.09	0.72	0.75	1.41
<b>Índices nutricionales</b>							
<b>Omega-3/100g filete <sup>j</sup></b>	0.80	0.87	8.54	0.22	0.43	0.43	0.92
<b>FLQ (%) <sup>k</sup></b>	25.29	24.99	-1.18	1.24	0.45	0.45	0.57
<b>IA <sup>l</sup></b>	0.56	0.56	0.58	0.02	0.48	0.48	0.78
<b>IT <sup>m</sup></b>	0.41	0.43	4.80	0.02	0.53	0.53	0.68
<b>HH <sup>n</sup></b>	1.75	1.72	-1.89	0.08	0.38	0.37	0.68
<b>Ácidos grasos (mg/ 100 g de filete)</b>							
<b>SFA <sup>o</sup></b>	1236	1226	-0.81	36.10	0.59	0.60	0.87
<b>MUFA <sup>p</sup></b>	878	868	-1.12	15.27	0.45	0.44	0.87
<b>PUFA <sup>q</sup></b>	965	883	-8.55	22.42	0.43	0.42	1.08
<b>EPA <sup>r</sup> + DHA <sup>s</sup></b>	779	745	-4.42	20.11	0.39	0.37	1.23
<b>C14:0</b>	76	78	2.70	22.14	0.44	0.43	0.61
<b>C14:1 n-5</b>	54	58	7.31	9.45	0.38	0.35	1.09
<b>C16:0</b>	727	729	0.23	114.10	0.42	0.41	0.93
<b>C16:1 n-7</b>	128	131	2.58	31.24	0.44	0.43	0.82
<b>C18:0</b>	407	434	6.51	67.86	0.40	0.38	0.89
<b>C18:1 n-7</b>	84	82	-2.19	18.60	0.39	0.37	1.25
<b>C18:1 n-9</b>	542	536	-1.03	95.95	0.45	0.44	0.63
<b>C18:2 n-6</b>	35	32	-8.91	8.63	0.46	0.45	0.66
<b>C18:3 n-3</b>	25	28	13.12	4.13	0.35	0.33	0.70

Resultados estadísticos de la validación externa de jurel 1. Continuación.

Propiedad	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
Ácidos grasos (mg/ 100 g de filete)							
<b>C20:0</b>	11	11	2.00	4.81	0.43	0.42	0.70
<b>C20:1 n-9</b>	21	18	-11.95	10.32	0.46	0.45	0.76
<b>C20:2 n-6</b>	10	9	-10.60	0.55	0.47	0.47	1.08
<b>C20:3 n-3</b>	89	85	-4.20	28.39	0.42	0.42	0.49
<b>C20:4 n-6</b>	24	27	14.29	4.77	0.37	0.35	0.65
<b>C20:5 n-3 (EPA <sup>f</sup>)</b>	89	80	-10.11	55.17	0.56	0.57	0.92
<b>C22:0</b>	3	3	-2.93	1.11	0.36	0.34	1.16
<b>C22:1 n-9</b>	7	7	-3.01	3.16	0.36	0.34	0.42
<b>C22:6 n-3 (DHA <sup>g</sup>)</b>	690	623	-9.70	139.00	0.41	0.39	1.17
<b>C24:0</b>	12	13	4.92	1.41	0.29	0.28	1.51
<b>C24:1 n-9</b>	41	42	2.95	5.60	0.45	0.44	0.49

<sup>a</sup> % RD, porcentaje de diferencia relativa; <sup>b</sup> R-error, error residual (debe ser lo más bajo posible); <sup>c</sup> DM, distancia de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>d</sup> DM total, distancia total de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>e</sup> RR, relación de residuales (debe ser menor a 3); <sup>f</sup> NVT, nitrógeno volátil total (mg N/100 g filete); <sup>g</sup> TMA, trimetilamina (mg N/100 g filete); <sup>h</sup> IP, índice de peróxido (meq peróxido/ kg filete); <sup>i</sup> TBARS, índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (mg MDA / kg filete); <sup>j</sup> Omega-3 /100 g pescado = gramos de (C22:6n-3 + C20:5n-3 + C20:3n-3 + C18:3n-3) /100 g de filete; <sup>k</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado; <sup>l</sup> IA, Índice de aterogenicidad; <sup>m</sup> IT, Índice de trombogenicidad; <sup>n</sup> HH, relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos; <sup>o</sup> SFA, ácidos grasos saturados; <sup>p</sup> MUFA, ácidos grasos monoinsaturados; <sup>q</sup> PUFA, ácidos grasos poliinsaturados; <sup>r</sup> EPA, ácido eicosapentaenóico (C20:5 n-3); <sup>s</sup> DHA, ácido docosahexaenóico (C22:6 n-3); ND = no detectado por el modelo; NA = no aplica.

Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de jurel evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 38 parámetros.

<b>MUESTRA: JUREL 2 (OTOÑO)</b>							
<b>Propiedad</b>	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
<b>Composición química (%)</b>							
<b>Humedad</b>	74.60	74.95	0.47	0.36	0.53	0.53	0.88
<b>Proteína</b>	19.75	19.84	0.48	0.30	0.42	0.41	0.38
<b>Grasa total</b>	4.62	4.38	-5.19	0.60	0.39	0.38	1.80
<b>Cenizas</b>	1.04	1.09	5.40	0.02	0.60	0.61	0.61
<b>pH e índices de deterioro</b>							
<b>pH</b>	6.50	6.48	-0.29	0.08	0.39	0.38	1.08
<b>NVT <sup>f</sup></b>	37.60	38.94	3.57	4.04	0.47	0.47	0.73
<b>TMA <sup>g</sup></b>	16.11	15.84	-1.69	1.76	0.54	0.55	0.63
<b>IP <sup>h</sup></b>	1.23	1.34	8.92	0.11	0.60	0.61	0.96
<b>TBARS <sup>i</sup></b>	1.35	1.23	-9.04	0.10	0.79	0.82	1.06
<b>Índices nutricionales</b>							
<b>Omega-3/100g filete <sup>j</sup></b>	1.15	1.09	-5.20	0.22	0.47	0.47	1.37
<b>FLQ (%) <sup>k</sup></b>	24.07	23.25	-3.41	1.25	0.58	0.59	0.69
<b>IA <sup>l</sup></b>	0.72	0.70	-2.87	0.02	0.72	0.74	0.84
<b>IT <sup>m</sup></b>	0.46	0.46	-0.07	0.02	0.64	0.65	0.86
<b>HH <sup>n</sup></b>	1.35	1.40	3.17	0.08	0.64	0.65	0.66
<b>Ácidos grasos (mg/ 100 g de filete)</b>							
<b>SFA <sup>o</sup></b>	1970	1978	0.41	40.30	0.64	0.65	1.06
<b>MUFA <sup>p</sup></b>	1331	1316	-1.13	52.90	0.47	0.46	1.03
<b>PUFA <sup>q</sup></b>	1321	1262	-4.47	30.70	0.91	0.98	0.49
<b>EPA <sup>r</sup> + DHA <sup>s</sup></b>	1113	1040	-6.56	39.10	0.27	0.28	0.52
<b>C14:0</b>	144	146	1.60	22.48	0.69	0.73	0.70
<b>C14:1 n-5</b>	31	30	-3.35	9.50	0.45	0.44	1.02
<b>C16:0</b>	1335	1214	-9.06	14.10	0.43	0.41	0.76
<b>C16:1 n-7</b>	265	259	-2.45	31.23	0.44	0.43	0.73
<b>C18:0</b>	457	450	-1.55	69.85	0.97	1.06	0.62
<b>C18:1 n-7</b>	154	142	-7.99	18.83	0.63	0.66	1.64
<b>C18:1 n-9</b>	787	768	-2.44	95.94	0.45	0.44	1.07
<b>C18:2 n-6</b>	42	40	-5.33	8.76	0.70	0.73	0.48
<b>C18:3 n-3</b>	39	38	-3.15	4.17	0.50	0.50	0.93

Resultados estadísticos de la validación externa de jurel 2. Continuación.

Propiedad	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
Ácidos grasos (mg/ 100 g de filete)							
<b>C20:0</b>	8	8	0.49	4.85	0.57	0.59	0.76
<b>C20:1 n-9</b>	40	39	-2.62	10.42	0.61	0.62	0.49
<b>C20:2 n-6</b>	10	9	-9.17	4.63	0.83	0.90	0.45
<b>C20:3 n-3</b>	95	98	3.35	28.69	0.56	0.57	0.70
<b>C20:4 n-6</b>	24	25	2.96	4.82	0.53	0.53	0.84
<b>C20:5 n-3 (EPA <sup>f</sup>)</b>	206	192	-6.65	55.62	0.72	0.76	0.49
<b>C22:0</b>	4	4	-4.10	1.14	0.74	0.78	0.73
<b>C22:1 n-9</b>	24	20	-16.92	3.26	0.96	1.06	0.35
<b>C22:6 n-3 (DHA <sup>g</sup>)</b>	906	875	-3.43	144.20	0.10	0.11	0.48
<b>C24:0</b>	21	21	1.05	1.49	0.85	0.88	0.96
<b>C24:1 n-9</b>	31	27	-13.19	5.62	0.49	0.49	0.95

<sup>a</sup> % RD, porcentaje de diferencia relativa; <sup>b</sup> R-error, error residual (debe ser lo más bajo posible); <sup>c</sup> DM, distancia de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>d</sup> DM total, distancia total de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>e</sup> RR, relación de residuales (debe ser menor a 3); <sup>f</sup> NVT, nitrógeno volátil total (mg N/100 g filete); <sup>g</sup> TMA, trimetilamina (mg N/100 g filete); <sup>h</sup> IP, índice de peróxido (meq peróxido/ kg filete); <sup>i</sup> TBARS, índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (mg MDA / kg filete); <sup>j</sup> Omega-3 /100 g pescado = gramos de (C22:6n-3 + C20:5n-3 + C20:3n-3 + C18:3n-3) /100 g de filete; <sup>k</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado; <sup>l</sup> IA, Índice de aterogenicidad; <sup>m</sup> IT, Índice de trombogenicidad; <sup>n</sup> HH, relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos; <sup>o</sup> SFA, ácidos grasos saturados; <sup>p</sup> MUFA, ácidos grasos monoinsaturados; <sup>q</sup> PUFA, ácidos grasos poliinsaturados; <sup>r</sup> EPA, ácido eicosapentaenóico (C20:5 n-3); <sup>s</sup> DHA, ácido docosahexaenóico (C22:6 n-3); ND = no detectado por el modelo; NA = no aplica.

Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de sierra evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 38 parámetros.

<b>MUESTRA: SIERRA 2 (OTOÑO)</b>							
<b>Propiedad</b>	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
<b>Composición química (%)</b>							
<b>Humedad</b>	73.35	73.53	0.24	0.36	0.58	0.58	1.14
<b>Proteína</b>	18.68	19.58	4.83	0.31	0.64	0.66	0.95
<b>Grasa total</b>	7.12	6.87	-3.48	0.61	0.66	1.02	1.79
<b>Cenizas</b>	1.02	1.06	3.73	0.02	0.45	0.44	0.99
<b>pH e índices de deterioro</b>							
<b>pH</b>	6.40	6.42	0.33	0.08	0.83	0.87	0.87
<b>NVT <sup>f</sup></b>	43.00	39.25	-8.72	4.13	1.01	1.07	0.93
<b>TMA <sup>g</sup></b>	17.33	18.70	7.92	0.81	0.13	0.12	1.08
<b>IP <sup>h</sup></b>	1.45	1.51	4.28	0.11	0.78	0.81	0.48
<b>TBARS <sup>i</sup></b>	0.85	0.84	-1.17	0.10	0.81	0.84	1.07
<b>Índices nutricionales</b>							
<b>Omega-3/100g filete <sup>j</sup></b>	1.34	1.21	-9.67	0.23	0.91	0.92	1.99
<b>FLQ (%) <sup>k</sup></b>	17.76	16.76	-5.65	1.31	0.34	1.39	2.65
<b>IA <sup>l</sup></b>	0.72	0.77	7.40	0.02	0.80	0.81	2.42
<b>IT <sup>m</sup></b>	0.55	0.59	5.94	0.02	0.80	0.82	2.36
<b>HH <sup>n</sup></b>	1.30	1.18	-9.32	0.08	0.89	0.91	2.29
<b>Ácidos grasos (mg/ 100 g de filete)</b>							
<b>SFA <sup>o</sup></b>	3033	3019	-0.46	54.70	0.80	0.83	1.82
<b>MUFA <sup>p</sup></b>	2444	2408	-1.47	55.90	0.80	0.85	1.25
<b>PUFA <sup>q</sup></b>	1641	1674	2.01	29.70	0.84	0.90	1.18
<b>EPA <sup>r</sup> + DHA <sup>s</sup></b>	1264	1301	2.93	9.00	0.92	0.91	1.25
<b>C14:0</b>	226	226	-0.18	22.57	0.76	0.80	1.04
<b>C14:1 n-5</b>	37	36	-2.14	9.59	0.61	0.63	3.68
<b>C16:0</b>	2021	2035	0.69	15.60	0.64	0.66	2.67
<b>C16:1 n-7</b>	484	475	-1.80	31.87	0.78	0.83	1.25
<b>C18:0</b>	733	747	1.90	70.79	0.24	1.09	1.23
<b>C18:1 n-7</b>	135	128	-5.11	19.03	0.84	0.91	1.00
<b>C18:1 n-9</b>	1659	1737	4.70	8.08	0.82	0.87	0.92
<b>C18:2 n-6</b>	56	58	2.68	0.21	0.61	1.80	2.33
<b>C18:3 n-3</b>	75	78	3.53	4.19	0.61	0.63	3.10

Resultados estadísticos de la validación externa de sierral 2. Continuación.

Propiedad	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
Ácidos grasos (mg/ 100 g de filete)							
<b>C20:0</b>	28	25	-12.29	4.92	0.84	0.90	0.89
<b>C20:1 n-9</b>	49	45	-8.45	10.50	0.74	0.78	0.96
<b>C20:2 n-6</b>	13	13	-0.54	4.57	0.58	0.59	2.59
<b>C20:3 n-3</b>	153	160	4.38	28.60	0.52	0.52	1.42
<b>C20:4 n-6</b>	80	80	-0.10	5.00	0.09	1.17	1.36
<b>C20:5 n-3 (EPA <sup>f</sup>)</b>	326	331	1.47	57.41	0.36	0.35	2.42
<b>C22:0</b>	6	6	4.47	1.12	0.49	0.48	1.90
<b>C22:1 n-9</b>	19	19	-3.21	3.21	0.64	0.67	1.24
<b>C22:6 n-3 (DHA <sup>g</sup>)</b>	939	934	-0.51	13.99	0.52	0.52	1.53
<b>C24:0</b>	19	19	1.53	1.46	0.66	0.67	1.89
<b>C24:1 n-9</b>	61	63	3.43	5.74	0.81	0.85	1.34

<sup>a</sup> % RD, porcentaje de diferencia relativa; <sup>b</sup> R-error, error residual (debe ser lo más bajo posible); <sup>c</sup> DM, distancia de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>d</sup> DM total, distancia total de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>e</sup> RR, relación de residuales (debe ser menor a 3); <sup>f</sup> NVT, nitrógeno volátil total (mg N/100 g filete); <sup>g</sup> TMA, trimetilamina (mg N/100 g filete); <sup>h</sup> IP, índice de peróxido (meq peróxido/ kg filete); <sup>i</sup> TBARS, índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (mg MDA / kg filete); <sup>j</sup> Omega-3 /100 g pescado = gramos de (C22:6n-3 + C20:5n-3 + C20:3n-3 + C18:3n-3) /100 g de filete; <sup>k</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado; <sup>l</sup> IA, Índice de aterogenicidad; <sup>m</sup> IT, Índice de trombogenicidad; <sup>n</sup> HH, relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos; <sup>o</sup> SFA, ácidos grasos saturados; <sup>p</sup> MUFA, ácidos grasos monoinsaturados; <sup>q</sup> PUFA, ácidos grasos poliinsaturados; <sup>r</sup> EPA, ácido eicosapentaenóico (C20:5 n-3); <sup>s</sup> DHA, ácido docosahexaenóico (C22:6 n-3); ND = no detectado por el modelo; NA = no aplica.

Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de atún evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 14 parámetros.

<b>MUESTRA: ATÚN 3 (INVIERNO)</b>							
<b>Propiedad</b>	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
Composición química (%)							
<b>Humedad</b>	73.38	73.17	0.29	0.35	0.31	0.30	0.78
<b>Proteína</b>	22.54	23.68	5.06	0.30	0.47	0.47	0.70
<b>Grasa total</b>	2.79	3.00	7.35	0.60	0.33	0.31	1.09
<b>Cenizas</b>	1.29	1.23	4.35	0.02	0.26	0.23	0.39
pH e índices de deterioro							
<b>pH</b>	5.65	5.58	1.20	0.08	0.32	0.30	0.93
<b>NVT <sup>f</sup></b>	17.30	17.87	3.29	3.99	0.19	0.16	1.15
<b>TMA <sup>g</sup></b>	0.00	ND	NA	1.75	0.37	0.35	0.71
<b>IP <sup>h</sup></b>	0.18	0.20	10.00	0.11	0.05	0.12	1.35
<b>TBARS <sup>i</sup></b>	0.52	0.55	6.38	0.09	0.21	0.18	1.48
Índices nutricionales							
<b>Omega-3/100g filete <sup>j</sup></b>	1.14	1.16	1.21	0.22	0.47	0.47	1.30
<b>FLQ (%) <sup>k</sup></b>	34.80	36.40	4.58	0.26	0.65	0.66	1.30
<b>IA <sup>l</sup></b>	0.57	0.53	-7.71	0.02	0.99	1.02	1.64
<b>IT <sup>m</sup></b>	0.28	0.25	-10.36	0.02	0.29	0.28	1.11
<b>HH <sup>n</sup></b>	1.96	2.16	10.22	0.08	0.58	0.59	1.38

<sup>a</sup> % RD, porcentaje de diferencia relativa; <sup>b</sup> R-error, error residual (debe ser lo más bajo posible); <sup>c</sup> DM, distancia de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>d</sup> DM total, distancia total de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>e</sup> RR, relación de residuales (debe ser menor a 3); <sup>f</sup> NVT, nitrógeno volátil total (mg N/100 g filete); <sup>g</sup> TMA, trimetilamina (mg N/100 g filete); <sup>h</sup> IP, índice de peróxido (meq peróxido/ kg filete); <sup>i</sup> TBARS, índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (mg MDA / kg filete); <sup>j</sup> Omega-3 /100 g pescado = gramos de (C22:6n-3+C20:5n-3+C20:3n-3 +C18:3n-3) /100 g de filete; <sup>k</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado; <sup>l</sup> IA, Índice de aterogenicidad; <sup>m</sup> IT, Índice de trombogenicidad; <sup>n</sup> HH, relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos.

Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de atún evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 14 parámetros.

<b>MUESTRA: ATÚN 4 (INVIERNO)</b>							
<b>Propiedad</b>	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
Composición química (%)							
<b>Humedad</b>	73.39	73.04	0.48	0.35	0.41	0.41	2.03
<b>Proteína</b>	23.27	23.62	1.50	0.30	0.35	0.34	1.07
<b>Grasa total</b>	2.38	2.59	8.74	0.60	0.33	0.31	1.25
<b>Cenizas</b>	1.32	1.27	4.02	0.02	0.64	0.66	1.18
pH e índices de deterioro							
<b>pH</b>	5.76	5.67	1.65	0.08	0.42	0.41	1.62
<b>NVT <sup>f</sup></b>	21.14	22.64	7.10	4.03	0.38	0.37	1.53
<b>TMA <sup>g</sup></b>	0.00	-1.66	NA	1.75	0.43	0.42	1.74
<b>IP <sup>h</sup></b>	0.33	0.33	0.85	0.11	0.59	0.61	1.78
<b>TBARS <sup>i</sup></b>	0.52	0.49	5.77	0.09	0.59	0.60	1.92
Índices nutricionales							
<b>Omega-3/100g filete <sup>j</sup></b>	1.27	1.18	-6.93	0.22	0.38	0.37	0.82
<b>FLQ (%) <sup>k</sup></b>	35.00	38.33	9.51	1.24	0.50	0.50	0.97
<b>IA <sup>l</sup></b>	0.54	0.53	-1.39	0.02	0.88	0.91	1.29
<b>IT <sup>m</sup></b>	0.29	0.27	-5.15	0.02	0.50	0.50	1.16
<b>HH <sup>n</sup></b>	2.01	2.19	8.77	0.08	0.60	0.60	1.50

<sup>a</sup> % RD, porcentaje de diferencia relativa; <sup>b</sup> R-error, error residual (debe ser lo más bajo posible); <sup>c</sup> DM, distancia de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>d</sup> DM total, distancia total de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>e</sup> RR, relación de residuales (debe ser menor a 3); <sup>f</sup> NVT, nitrógeno volátil total (mg N/100 g filete); <sup>g</sup> TMA, trimetilamina (mg N/100 g filete); <sup>h</sup> IP, índice de peróxido (meq peróxido/ kg filete); <sup>i</sup> TBARS, índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (mg MDA / kg filete); <sup>j</sup> Omega-3 /100 g pescado = gramos de (C22:6n-3+C20:5n-3+C20:3n-3 +C18:3n-3) /100 g de filete; <sup>k</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado; <sup>l</sup> IA, Índice de aterogenicidad; <sup>m</sup> IT, Índice de trombogenicidad; <sup>n</sup> HH, relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos.

Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de jurel evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 14 parámetros.

<b>MUESTRA: JUREL 3 (INVIERNO)</b>							
<b>Propiedad</b>	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
<b>Composición química (%)</b>							
<b>Humedad</b>	75.95	75.46	0.65	0.35	0.38	0.37	1.27
<b>Proteína</b>	21.00	19.82	5.62	0.30	0.50	0.50	0.79
<b>Grasa total</b>	1.53	1.43	6.86	0.60	0.34	0.32	2.07
<b>Cenizas</b>	1.25	1.27	1.28	0.02	0.74	0.77	0.61
<b>pH e índices de deterioro</b>							
<b>pH</b>	6.06	6.05	0.18	0.08	0.53	0.53	1.50
<b>NVT <sup>f</sup></b>	12.56	11.63	7.40	4.07	0.64	0.65	1.21
<b>TMA <sup>g</sup></b>	0.00	-0.57	NA	1.77	0.61	0.62	1.52
<b>IP <sup>h</sup></b>	1.02	1.04	2.06	0.11	0.43	0.42	1.57
<b>TBARS <sup>i</sup></b>	1.09	1.00	8.26	0.09	0.25	0.23	1.72
<b>Índices nutricionales</b>							
<b>Omega-3/100g filete <sup>j</sup></b>	0.32	0.34	7.71	0.23	0.62	0.63	2.15
<b>FLQ (%) <sup>k</sup></b>	16.44	16.54	0.63	1.27	0.82	0.84	1.11
<b>IA <sup>l</sup></b>	0.80	0.77	-3.93	0.02	0.85	0.87	1.25
<b>IT <sup>m</sup></b>	0.58	0.55	-4.93	0.02	0.82	0.85	1.40
<b>HH <sup>n</sup></b>	1.21	1.19	-1.33	0.08	0.92	0.95	1.41

<sup>a</sup> % RD, porcentaje de diferencia relativa; <sup>b</sup> R-error, error residual (debe ser lo más bajo posible); <sup>c</sup> DM, distancia de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>d</sup> DM total, distancia total de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>e</sup> RR, relación de residuales (debe ser menor a 3); <sup>f</sup> NVT, nitrógeno volátil total (mg N/100 g filete); <sup>g</sup> TMA, trimetilamina (mg N/100 g filete); <sup>h</sup> IP, índice de peróxido (meq peróxido/ kg filete); <sup>i</sup> TBARS, índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (mg MDA / kg filete); <sup>j</sup> Omega-3 /100 g pescado = gramos de (C22:6n-3+C20:5n-3+C20:3n-3 +C18:3n-3) /100 g de filete; <sup>k</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado; <sup>l</sup> IA, Índice de aterogenicidad; <sup>m</sup> IT, Índice de trombogenicidad; <sup>n</sup> HH, relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos.

Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de jurel evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 14 parámetros.

<b>MUESTRA: JUREL 4 (INVIERNO)</b>							
<b>Propiedad</b>	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
Composición química (%)							
<b>Humedad</b>	76.00	75.76	0.32	0.36	0.46	0.46	1.97
<b>Proteína</b>	20.72	20.63	0.43	0.31	0.81	0.84	1.43
<b>Grasa total</b>	2.90	2.97	2.45	0.60	0.33	0.31	1.09
<b>Cenizas</b>	1.18	1.23	4.41	0.02	0.41	0.40	0.88
pH e índices de deterioro							
<b>pH</b>	6.20	6.15	0.74	0.08	0.44	0.44	0.79
<b>NVT <sup>f</sup></b>	14.15	15.73	11.17	4.02	0.36	0.34	0.72
<b>TMA <sup>g</sup></b>	0.00	ND	NA	1.75	0.35	0.33	0.79
<b>IP <sup>h</sup></b>	1.30	1.17	9.92	0.11	0.41	0.40	1.30
<b>TBARS <sup>i</sup></b>	1.45	1.31	9.66	0.09	0.66	0.68	1.32
Índices nutricionales							
<b>Omega-3/100g filete <sup>j</sup></b>	0.51	0.53	5.21	0.22	0.49	0.49	0.95
<b>%FLQ (%) <sup>k</sup></b>	16.50	18.12	9.82	1.25	0.52	0.52	0.97
<b>IA <sup>l</sup></b>	0.78	0.75	-3.74	0.02	0.56	0.56	1.30
<b>IT <sup>m</sup></b>	0.58	0.52	-10.62	0.02	0.48	0.48	1.17
<b>HH <sup>n</sup></b>	1.21	1.18	-1.99	0.08	0.45	0.45	1.30

<sup>a</sup> % RD, porcentaje de diferencia relativa; <sup>b</sup> R-error, error residual (debe ser lo más bajo posible); <sup>c</sup> DM, distancia de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>d</sup> DM total, distancia total de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>e</sup> RR, relación de residuales (debe ser menor a 3); <sup>f</sup> NVT, nitrógeno volátil total (mg N/100 g filete); <sup>g</sup> TMA, trimetilamina (mg N/100 g filete); <sup>h</sup> IP, índice de peróxido (meq peróxido/ kg filete); <sup>i</sup> TBARS, índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (mg MDA / kg filete); <sup>j</sup> Omega-3 /100 g pescado = gramos de (C22:6n-3+C20:5n-3+C20:3n-3 +C18:3n-3) /100 g de filete; <sup>k</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado; <sup>l</sup> IA, Índice de aterogenicidad; <sup>m</sup> IT, Índice de trombogenicidad; <sup>n</sup> HH, relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos.

Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de sierra evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 14 parámetros.

<b>MUESTRA: SIERRA 3 (INVIERNO)</b>							
<b>Propiedad</b>	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
Composición química (%)							
<b>Humedad</b>	73.31	72.77	0.74	0.35	0.25	0.23	0.93
<b>Proteína</b>	19.69	19.92	1.17	0.30	0.45	0.44	1.36
<b>Grasa total</b>	5.77	5.69	-1.39	0.60	0.24	0.49	1.00
<b>Cenizas</b>	1.23	1.19	-3.17	0.02	0.42	0.41	0.45
pH e índices de deterioro							
<b>pH</b>	6.17	6.14	-0.47	0.08	0.35	0.34	0.97
<b>NVT <sup>f</sup></b>	12.00	11.13	-7.25	4.03	0.38	0.37	1.49
<b>TMA <sup>g</sup></b>	1.70	1.90	11.82	1.76	0.45	0.44	2.80
<b>IP <sup>h</sup></b>	0.80	0.73	-9.00	0.11	0.46	0.46	1.80
<b>TBARS <sup>i</sup></b>	0.57	0.60	4.44	0.09	0.17	0.14	1.74
Índices nutricionales							
<b>Omega-3/100g filete <sup>j</sup></b>	1.06	1.14	7.98	0.22	0.36	0.35	1.15
<b>FLQ (%) <sup>k</sup></b>	17.11	16.91	-1.18	1.24	0.47	0.46	1.31
<b>IA <sup>l</sup></b>	0.69	0.69	-0.13	0.02	0.31	0.30	1.15
<b>IT <sup>m</sup></b>	0.50	0.50	0.28	0.02	0.37	0.36	1.89
<b>HH <sup>n</sup></b>	1.46	1.41	-3.19	0.08	0.38	0.37	2.33

<sup>a</sup> % RD, porcentaje de diferencia relativa; <sup>b</sup> R-error, error residual (debe ser lo más bajo posible); <sup>c</sup> DM, distancia de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>d</sup> DM total, distancia total de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>e</sup> RR, relación de residuales (debe ser menor a 3); <sup>f</sup> NVT, nitrógeno volátil total (mg N/100 g filete); <sup>g</sup> TMA, trimetilamina (mg N/100 g filete); <sup>h</sup> IP, índice de peróxido (meq peróxido/ kg filete); <sup>i</sup> TBARS, índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (mg MDA / kg filete); <sup>j</sup> Omega-3 /100 g pescado = gramos de (C22:6n-3+C20:5n-3+C20:3n-3 +C18:3n-3) /100 g de filete; <sup>k</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado; <sup>l</sup> IA, Índice de aterogenicidad; <sup>m</sup> IT, Índice de trombogenicidad; <sup>n</sup> HH, relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos.

Resultados estadísticos de la validación externa de una muestra de sierra evaluada con los modelos quimiométricos para la predicción de 14 parámetros.

<b>MUESTRA: SIERRA 4 (INVIERNO)</b>							
<b>Propiedad</b>	Valor Real	Valor Predicho	%RD <sup>a</sup>	R-error <sup>b</sup>	DM <sup>c</sup>	DM total <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
Composición química (%)							
<b>Humedad</b>	73.50	73.67	0.23	0.37	0.48	0.50	2.26
<b>Proteína</b>	18.08	17.42	-3.65	0.31	0.83	0.86	2.61
<b>Grasa total</b>	8.37	7.94	-5.20	0.61	0.90	0.91	3.04
<b>Cenizas</b>	1.06	1.06	-0.09	0.02	0.97	0.98	1.92
pH e índices de deterioro							
<b>pH</b>	6.45	6.56	1.74	0.08	0.63	0.65	2.82
<b>NVT <sup>f</sup></b>	11.06	11.09	0.27	4.02	0.32	0.30	0.64
<b>TMA <sup>g</sup></b>	0.00	-0.04	na	1.74	0.27	0.26	0.86
<b>IP <sup>h</sup></b>	0.71	0.77	8.70	0.11	0.27	0.24	1.49
<b>TBARS <sup>i</sup></b>	0.72	0.66	-8.60	0.09	0.15	0.12	0.80
Índices nutricionales							
<b>Omega-3/100g filete <sup>j</sup></b>	1.07	1.04	-2.68	0.23	0.02	0.06	6.68
<b>FLQ (%) <sup>k</sup></b>	18.21	17.98	-1.25	1.38	0.22	0.23	4.38
<b>IA <sup>l</sup></b>	0.84	0.86	3.36	0.02	1.43	1.49	6.05
<b>IT <sup>m</sup></b>	0.57	0.62	9.93	0.02	1.12	1.17	6.52
<b>HH <sup>n</sup></b>	1.01	0.94	-6.30	0.08	1.57	1.62	6.46

<sup>a</sup> % RD, porcentaje de diferencia relativa; <sup>b</sup> R-error, error residual (debe ser lo más bajo posible); <sup>c</sup> DM, distancia de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>d</sup> DM total, distancia total de Mahalanobis (debe ser menor a 1); <sup>e</sup> RR, relación de residuales (debe ser menor a 3); <sup>f</sup> NVT, nitrógeno volátil total (mg N/100 g filete); <sup>g</sup> TMA, trimetilamina (mg N/100 g filete); <sup>h</sup> IP, índice de peróxido (meq peróxido/ kg filete); <sup>i</sup> TBARS, índice de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (mg MDA / kg filete); <sup>j</sup> Omega-3 /100 g pescado = gramos de (C22:6n-3+C20:5n-3+C20:3n-3 +C18:3n-3) /100 g de filete; <sup>k</sup> %FLQ, índice de la calidad de los lípidos del pescado; <sup>l</sup> IA, Índice de aterogenicidad; <sup>m</sup> IT, Índice de trombogenicidad; <sup>n</sup> HH, relación de ácidos grasos hipocolesterolémicos a hipercolesterolémicos.