

## Comparación de métodos para la determinación de Nitrógeno Básico Volátil en merluza común (*Merluccius hubbsi*)

Spath, Carolina; Garbari, Delfina; Bononi, Melisa; Vergara, Olga; Campos Otamendi, Felipe  
INTI Mar del Plata  
mspath@inti.gov.ar

### **OBJETIVO**

El óxido de trimetilamina (OTMA) constituye una parte característica e importante de la fracción del nitrógeno no proteico en las especies de agua de mar. La reducción postmortem del OTMA por enzimas bacterianas conduce a un aumento de la trimetilamina. Este proceso va acompañado de una significativa producción de amoníaco y otros compuestos básicos nitrogenados tales como metilamina y dimetilamina, que se conocen colectivamente como NBV-T. El Código Alimentario Argentino establece que será inepto para consumo humano cualquier producto de la pesca que supere los 30 mg de N/100 g de parte comestible.

El objetivo del presente trabajo es comparar el método de destilación por arrastre de vapor con el método de destilación de bases nitrogenadas con óxido de magnesio utilizando una unidad de destilación automática para determinar NBV-T en merluza (*Merluccius hubbsi*) y evaluar la confiabilidad y velocidad de obtención de resultados en ensayos de rutina.

### **DESCRIPCIÓN**

#### **Preparación de la muestra**

Para la realización de los ensayos se adquirió un bloque de 7 kg de filetes de merluza sin piel, interfoliados, congelados en altamar, de la empresa Moscuza SA. Los filetes fueron separados en bolsas de 0,5 kg aproximadamente, que se almacenaron a -18 °C. Cada día de análisis, se descongeló y homogeneizó un lote con cantidad suficiente de muestra para la realización de los ensayos, que fue mantenida a temperatura de refrigeración (4°C) hasta el momento de ser analizada.

#### **Determinación de NBV-T**

Para la determinación por el método de destilación por arrastre de vapor, se colocaron 10 g de muestra homogeneizada en la cámara de destilación de Antonacopoulos y 2 g de óxido de magnesio. Para la destilación directa utilizando la unidad de destilación automática 1002 de Foss Tecator se siguió la misma metodología que para el método de destilación

por arrastre de vapor, pero previamente se homogeneizó la alícuota de muestra con 75 ml de agua destilada.

Las bases volátiles se recogieron, en ambos métodos, sobre ácido bórico al 3% con indicador Tashiro (rojo de metilo/azul de metileno (2:1), hasta obtener un volumen final de destilado de 200 ml. Por último, las bases volátiles se titularon con ácido sulfúrico 0,1 N. El NVB-T se cuantificó como mg de N/100 g muestra. Los ensayos fueron realizados por diferentes analistas al cabo de seis días. Se realizaron entre 3 – 6 replicados para la destilación por arrastre de vapor y entre 4 – 9 replicados para el método de destilación utilizando la unidad de destilación automática. Los resultados obtenidos por ambos métodos se analizaron aplicándose la prueba de Fisher de comparación de varianzas para establecer si existen o no diferencias estadísticamente significativas entre ambos.

Asimismo, se examinó el comportamiento de ambos métodos a través del ensayo de recuperación de amoníaco, usando como patrón 0,15 g de sulfato de amonio, previamente secado en estufa, que equivaldría a un contenido de NBV-T del 21,09 mg N/100 g.

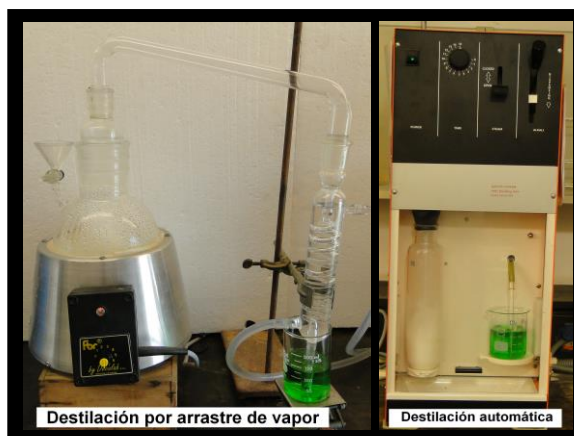


Figura 1: Equipamiento.

### **RESULTADOS**

Se presentan los resultados de la comparación de los métodos de destilación por arrastre de vapor y el de destilación automática para la cuantificación de NBV-T aplicada a muestras de merluza (Tabla 1).

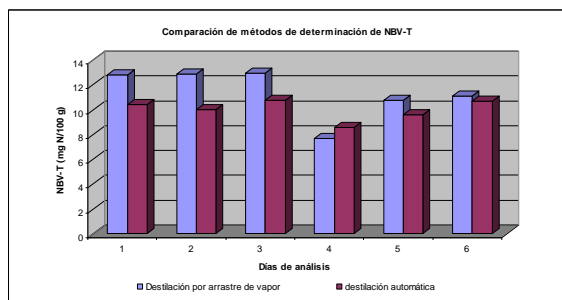
**Tabla 1: Comparación de métodos para la cuantificación de NBV-T**

Día	Destilación por arrastre de vapor			Destilación automática			Diferencia absoluta
	mg N/100 g	sd	n	mg N/100 g	sd	n	
1	12,83	1,53	3	10,42	0,59	4	2,41
2	12,88	0,37	4	10,01	0,65	5	2,87
3	12,91	0,16	4	10,79	0,31	9	2,12
4	7,66	0,37	4	8,57	0,76	5	0,91
5	10,74	0,25	6	9,62	0,21	6	1,12
6	11,08	0,37	5	10,66	0,23	5	0,42

sd: desviación estándar; n: replicados

Cada día se analizó un lote distinto, por tal motivo los valores de NBV-T difieren entre los distintos días de análisis.

Del análisis de los resultados se infiere que con el método de destilación por arrastre de vapor se obtienen valores de NBV-T superiores a los alcanzados con el método de destilación automática, a excepción de lo observado el día 4, donde la relación fue inversa. Las diferencias absolutas entre los resultados promedios hallados con ambos métodos se encuentran entre 0,42 y 2,87. Para una mejor apreciación de los resultados los mismos fueron graficados y se presentan en la Figura 2.



**Figura 2: Comparación de medias obtenidas con ambos métodos**

Para evaluar si existe una correlación entre ambos métodos en la cuantificación de NBV-T se realizó la prueba t para medias de dos muestras emparejadas a un nivel de confianza del 95% (Tabla 2).

**Tabla 2: Prueba t**

	Variable 1	Variable 2
Media	11,35	10,01
Varianza	4,2052	0,6849
Observaciones	6	6
Coefficiente de correlación de Pearson	0,8484	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	2,3121	
P(T<=t) una cola	0,0343	
Valor crítico de t (una cola)	2,0150	
P(T<=t) dos colas	0,0687	
Valor crítico de t (dos colas)	2,5706	

Del análisis de la Tabla 2 se llega a la conclusión que no existen diferencias estadísticamente significativas al 95 % de confianza dado que el valor de t calculado es menor que el t crítico.

Los resultados del examen del comportamiento de los métodos en la recuperación de amoníaco partiendo de sulfato de amonio se recogen en la tabla 3.

**Tabla 3: Porcentajes de recuperación de amoníaco**

Ensayo	Destilación por arrastre de vapor	Destilación automática
1	98,63	99,69
2	98,23	99,62
3	98,19	99,56
4	98,46	98,84
5	98,37	99,16
6	98,05	99,69
Promedio	98,32	99,43

De la evaluación de los resultados del % de recuperación de amoníaco se puede decir que los mismos son más altos para el método de destilación automática que para el método de destilación por arrastre de vapor. La prueba F para varianzas de dos muestras demuestra que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores de porcentajes de recuperación hallados.

## CONCLUSIONES

Si bien el análisis estadístico demuestra que los métodos en estudio no presentan diferencias estadísticamente significativas en la cuantificación de nitrógeno básico volátil total en merluza, se puede observar que el estadístico t es muy cercano al valor de t crítico. Para aseverar que ambos métodos pueden utilizarse indistintamente, deberá adquirirse un material de referencia certificado de matriz pescado provisto por The Food and Environment Research Agency, FAPAS, que permita evaluar cuál de los dos métodos es más preciso y exacto para cuantificar este parámetro y realizar una validación completa de ambos métodos. De todos modos, el método automático posee la ventaja de obtener resultados más rápido que el método tradicional de destilación por arrastre de vapor, disminuyendo los tiempos de análisis en un 60%.