

ELIMINACIÓN DE *Vibrio cholerae*, EL TOR, EN CHOROS (*Aulacomya ater*) CON EL USO DE RADIACIÓN GAMMA

Torres Z.⁽¹⁾ ztorres@ipen.gob.pe, Zapata G.⁽²⁾

(1) Instituto Peruano de Energía Nuclear / Lima, Perú
(2) Universidad Nacional Agraria de la Selva / Pucallpa, Perú

RESUMEN

Se determinó el valor D_{10} de *vibrio cholerae* en choros (*Aulacomya ater*), experimento que fue llevado a cabo *in vivo*. El D_{10} fue de 0,138 kGy por lo que es necesario aplicar 8D en choros, que es equivalente a una dosis obtenida de 1,102 kGy para eliminar un recuento de 10^8 Vibrios/g, cantidad que es causante de la enfermedad. La dosis óptima para la extensión de la vida útil de muestras mantenidas bajo condiciones de refrigeración (0-1 °C) examinadas periódicamente bajo el criterio de los diferentes métodos analíticos fue de 1 kGy, el tiempo de vida útil en los choros crudos para la característica apariencia, alcanza los 14 días para las muestras testigo y 31 días para las irradiadas a 1 kGy, el olor de las muestras testigo solo fue aceptado hasta los 12 días mientras que las muestras irradiadas a 1 kGy sobrepasaron este nivel llegando a 22 días. Para los choros cocidos, la característica olor fue aceptable solo hasta los 15 días a diferencia de las muestras irradiadas a 1 kGy que llegaron a alcanzar los 35 días, mientras que la vida útil para el sabor, el testigo solo alcanzó los 14 días en tanto para las muestras irradiadas a 1 kGy se extendieron hasta los 30 días. También se estudió el uso del pH y bases volátiles nitrogenadas como índices de calidad.

1. INTRODUCCIÓN

Existe alta incidencia de enfermedades que son transmitidas por alimentos contaminados por diferentes tipos de microorganismos que afectan la salud del consumidor y provocan cuantiosas pérdidas humanas, además de materiales, que por lo general se presenta en los países en vías de desarrollo, como es el caso del cólera, enfermedad que ha causado cuantiosas pérdidas en países como el Perú donde a causa de la epidemia, las pérdidas superaron el orden de los 500 millones de dólares en el comercio internacional de productos marinos el año 1991[1].

Por tal razón la irradiación de alimentos se presenta como una alternativa viable para asegurar la eliminación del *vibrio cholerae*, microorganismo causante de la enfermedad citada anteriormente, en productos destinados a la exportación o al consumo interno como son los choros (*Aulacomya ater*), las cuales se encuentran distribuidas en grandes cantidades en los diversos "Bancos naturales" de nuestro litoral, la cual hace posible la exportación en forma de producto crudo-congelado y que se presenta como una especie de riesgo por ser un molusco bivalvo el cual filtra sus alimentos del medio y cuyo hábitat se encuentra próximo a la costa, con lo que aumenta las posibilidades de contaminación [2].

Para el presente trabajo se trazaron dos objetivos, el primero fue la determinación del valor D_{10} para el *vibrio cholerae* en choros, estudio que fue realizado *in vivo* y cuyo método de inoculación simula la contaminación natural con agua de mar, en la cual el cultivo fue suspendido y el segundo fue la determinación de la dosis óptima de irradiación para extender el tiempo de vida útil de los choros en almacenamiento a temperaturas de refrigeración (0-1 °C) [3].

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materia prima

Los choros (*Aulacomya ater*) usados para la determinación del valor D_{10} y para la determinación de la vida útil en almacenamiento proceden del puerto de Pisco, provincia de Ica y fueron comprados en el Terminal Marítimo de Villa María (ubicado en el distrito de Villa María del Triunfo, Lima) los cuales se encontraban vivos y en estado fresco, lo cual garantizó las diversas pruebas que se realizaron. Existía un promedio de 12 a 15 horas entre la extracción del choro y la realización de la primera prueba en el laboratorio.

2.2. Embolsado

Para este trabajo de investigación se utilizaron films de Nylon 6 de 25 μ selladas a atmósfera normal y esterilizadas por irradiación, para cumplir con los dos objetivos trazados dentro del mismo, dicho polímero está recomendado para el uso en la radapertización de carnes por su bajo olor residual cuando es sometido a la energía ionizante[4].

2.3. Irradiación

El equipo utilizado para la irradiación fue un irradiador Gammacell 220, con fuente de ^{60}Co , y tasa de dosis de 2,4054 kGy/h. Para la obtención del valor D_{10} las muestras inoculadas con *vibrio cholerae* fueron irradiadas a dosis de 0,1; 0,2; 0,3 y 0,4 kGy a temperatura ambiente. La dosis evaluada para la obtención de la vida útil de las muestras refrigeradas fue de 1.0 kGy, nivel de dosis escogido de los resultados obtenidos de la determinación de la D_{10} para la eliminación de un recuento microbiano máximo de 10^8 Vibrio/g. Para el cálculo de la tasa de dosis se utilizó la dosimetría Fricke.

2.4. Almacenamiento

Las muestras (testigo y 1 kGy) fueron mantenidas bajo condiciones de refrigeración (0-1 °C), las cuales fueron evaluadas cada 7 días teniendo en cuenta los diferentes métodos analíticos para la determinación de la vida útil en almacenamiento los que se indicaran posteriormente.

2.5. Determinación del valor D_{10}

Se determinó el efecto de la radiación gamma (^{60}Co) sobre el *vibrio cholerae*, el Tor, serotipo Inaba, en choros, la cual fue incubada en Agua Peptonada Alcalina (APA) a 42 °C y 8 horas, estriada en Agar Infusión Cerebro Corazón (BHIA) inclinado e incubada por 24 horas a 37 °C [5].

El inóculo se obtuvo sembrando una asada del cultivo anterior en 3 matraces con 50 ml de APA e incubándolos a 42 °C por 24 horas; dicho volumen fue vertido en una pecera con agua de mar previamente ozonizada, conteniendo choros, los cuales registraron una contaminación aproximada de 10^8 V. Cholerae/g. Se tomaron muestras que fueron homogeneizadas e irradiadas a las dosis indicadas en 2,3; y evaluadas microbiológicamente por el método de inclusión en placas con BHIA. Finalmente con los datos de los

contajes microbianos (UFC/g) encontrados en función de la dosis de irradiación se hizo una regresión lineal para obtener una curva semilogarítmica de letalidad donde el negativo de la inversa de la pendiente es el valor D_{10} [6].

2.6. Métodos analíticos para la determinación de la vida útil en almacenamiento

2.6.1. Evaluación sensorial

Las evaluaciones sensoriales del testigo y muestras irradiadas se llevaron a cabo el día 1 (después de la irradiación), 8vo, 15vo y 22vo día del almacenamiento por un panel entrenado de 5 miembros, con más de cinco años de experiencia con productos marinos. Las muestras a evaluar fueron previamente preparadas, la cual consistía en una breve cocción en agua por un tiempo de 3 minutos, sin adicionar sal ni otros aditivos, y luego colocadas en platos codificados. Se utilizó una tabla con una escala descriptiva de características organolépticas con puntajes de 1 a 5, siendo el límite de aceptación igual a 3, presentada en el anexo I, que fue preparada tomando como referencia la tabla de calificación elaborada por Singson *et al.* [7]. Los resultados obtenidos en las evaluaciones sensoriales fueron procesados mediante el diseño estadístico Parcialmente Vacilante para calcular los límites de confianza y el tiempo de vida útil a partir de las calificaciones de cada parámetro.

2.6.2. Análisis microbiológico

Las evaluaciones microbiológicas del testigo y muestras irradiadas fueron ejecutadas a intervalos de 7 días durante su almacenamiento en refrigeración efectuándose recuentos de microorganismos aerobios totales usando el método de inclusión en placas con BHIA incubadas a 22 °C por 24 horas [5].

2.6.3. Análisis químicos

2.6.3.1. Análisis de bases volátiles nitrogenadas (BVT-N)

Fueron cuantificadas por el método de Microdifusión en placas Conway [8], empleando ácido bórico y carbonato de potasio saturado e incubado a 37 °C por 90 minutos. La titulación se llevó a cabo con ácido clorhídrico 0,02N.

Las muestras control e irradiada a la dosis óptima, fueron evaluadas inmediatamente

después de la irradiación, 8vo, 15vo. y 22vo. día de almacenamiento refrigerado.

2.6.3.2. Determinación de pH

El pH de la muestra homogeneizada fue determinado en un potenciómetro eléctrico en una proporción de carne /agua destilada 1:10 [9].

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Efectos de la irradiación sobre el *Vibrio cholerae*

Esta fase de la investigación se centró en la

determinación del valor D_{10} en choros, experimento que fue llevado a cabo in vivo, dada la característica de filtrador de esta especie, por la cual los vibrios presentes en el medio marino son absorbidos en forma natural y depositados en el sistema digestivo de los mencionados bivalvos

La figura 1 muestra la curva de supervivencia del *vibrio cholerae* ajustada mediante una regresión lineal. El valor D_{10} fue de 0,138 kGy con un coeficiente de determinación R^2 de 0,914 por lo que es necesario aplicar 8D (población promedio que puede causar la enfermedad [10]) en choros, que es equivalente a una dosis de 1,102 kGy.

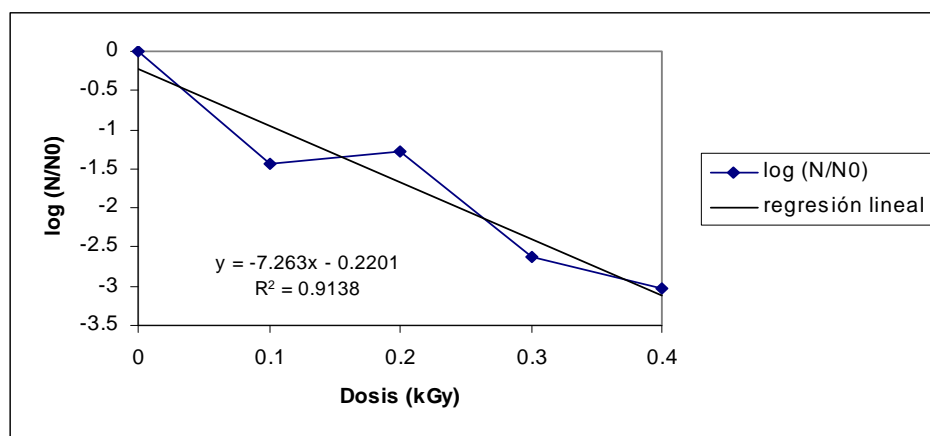


Figura 1. Determinación del valor D_{10} para *vibrio cholerae* en choros.

Esto concuerda con los datos obtenidos por Gelli [3] que realizó experimentos *in vivo* utilizando Ostras (*Classostrea brasiliana*) obteniendo un valor de 1,5 kGy para la inactivación de un promedio de 8 ciclos logarítmicos de *vibrio cholerae* 0139. Asimismo Rubio [3] halló el valor D_{10} para los serotipos Inaba y Ogawa de *vibrio cholerae* entre 0,13 y 0,19 kGy.

3.2. Evaluación sensorial

3.2.1. Materia prima

La calidad de la materia prima se consideró como muy buena de acuerdo a lo reportado en la Tabla 1, en el cual se observa que el primer día el promedio de los puntajes

otorgados por los miembros del panel para las características olor y apariencia de las muestras crudas alcanzaron valores próximos a los 5 puntos.

3.2.2. Choros crudos

Los panelistas reportaron un ligero aroma impropio (off-odor), que se percibió en el momento de la apertura del empaque, el mismo que se disipaba muy rápidamente. Experiencias pasadas a dosis por debajo de 1 kGy, en ostras, indicaron presencia de olor graso[11]. De la tabla 1 se halla mediante una regresión lineal que el tiempo de vida útil, para la característica apariencia alcanza el límite de aceptabilidad de 3, a los 14 días para las muestras testigo y a los 31 días para las muestras irradiadas a 1 kGy.

De acuerdo a los resultados indicados en el

mencionado cuadro tenemos que el olor de las muestras testigo solo fue aceptado hasta los 12 días mientras que las muestras irradiadas a 1 kGy sobrepasan este nivel llegando a 22 días.

3.2.3. Choros cocidos

De la tabla 2 se halla que las muestras testigo presentaron un olor aceptable solo hasta los 15 días a diferencia de las muestras irradiadas a 1 kGy llegaron a alcanzar los 35 días. Del

mismo modo se puede precisar que la vida útil de la característica Sabor en las muestras testigo solo alcanzan los 15 días, mientras que las muestras irradiadas a 1 kGy se extendió hasta los 35 días. Se observa también que la Textura de las muestras testigo se mantuvo dentro de los límites aceptables hasta los 22 días, en tanto que las muestras irradiadas a 1 kGy, llegaron hasta los 46 días.

Tabla 1. Calificaciones promedios y límites de confianza de parámetros organolépticos evaluados en choros crudos.

Días		Testigo		1 kGy		
Apariencia	Puntaje	Límite inferior	Límite superior	Puntaje	Límite inferior	Límite superior
1	4,30	1,87	7,47 *	4,30	3,72	5,04 *
8	4,20	1,34	6,24 *	4,20	3,48	4,64
15	3,20	0,46**	5,36 *	3,70	3,16	4,32
22	1,70	0,77 **	4,83	3,40	2,76	4,08
Olor						
1	4,40	3,53	5,53 *	4,40	3,81	5,11 *
8	3,70	2,69	4,43	4,00	3,40	4,54
15	2,70	1,72	3,46	3,60	2,91	4,05
22	1,50	0,62 **	2,62	2,90	2,34	3,64
Textura						
1	4,30	2,55	6,59 *	4,50	4,03	4,89
8	4,10	2,03	5,55 *	4,00	3,64	4,40
15	3,20	1,25	4,77	3,50	3,20	3,96
22	2,00	0,21 **	4,25	3,20	2,71	3,57

* Estos valores van a tomarse, como equivalentes a la puntuación máxima (5).

** Estos valores pueden tomarse como equivalente a la puntuación mínima (1).

Tabla 2. Calificaciones promedios y límites de confianza de parámetros organolépticos evaluados en choros cocidos.

Días		Testigo		1 kGy		
Olor	Puntaje	Límite inferior	Límite superior	Puntaje	Límite inferior	Límite superior
1	4,40	1,88	7,72 *	4,40	3,84	5,14 *
8	4,40	1,35	6,45 *	4,30	3,61	4,75
15	3,20	0,45 **	5,55 *	3,90	3,30	4,44
22	1,80	-0,82 **	5,02 *	3,50	2,91	4,21
Sabor						
1	4,60	2,67	7,13 *	4,50	4,31	4,75
8	4,30	1,90	5,80 *	4,20	3,97	4,35
15	2,80	0,85 **	4,75	3,80	3,60	3,98
22	1,60	-0,48 **	3,98	3,40	3,20	3,64
Textura						
1	4,20	2,79	6,05 *	4,10	3,18	5,24 *
8	4,20	2,52	5,36 *	4,10	3,12	4,92
15	3,60	2,04	4,88	4,00	2,93	4,73
22	2,80	1,35	4,61	3,50	2,61	4,67

*Estos valores van a tomarse, como equivalentes a la puntuación máxima (5).

** Estos valores pueden tomarse como equivalente a la puntuación mínima (1).

3.3. Evaluación microbiológica

Los análisis microbiológicos se realizaron periódicamente a partir del día 1 hasta el día

22, cada siete días respectivamente, tanto para la muestra testigo como para la irradiada

a 1 kGy. Los resultados aparecen en la Tabla 3.

Tabla 3. Recuento total de aerobios mesófilos en almacenamiento.

Días de almacenamiento	Testigo	1 kGy
1	$6,10 \times 10^4$	$9,00 \times 10^2$
8	$3,00 \times 10^5$	$1,50 \times 10^3$
15	$8,00 \times 10^5$	$5,20 \times 10^3$
22	$7,50 \times 10^7$	$6,40 \times 10^3$

Los recuentos obtenidos para el día 1, demuestran que desde el punto de vista microbiológico la materia prima era regular a baja calidad lo cual es usual en países que no cuentan con un adecuado control sanitario, como es el caso del Perú, donde la comercialización de productos se realiza en condiciones desfavorables.

Al comparar los valores hallados en las muestras irradiadas con el testigo, el primer día de análisis, se puede observar una disminución significativa de la población microbiana de un orden de $1,831 \log$ para la muestra irradiada a 1 kGy, lo cual demuestra la efectividad de la dosis empleada. Tanto el testigo como las muestras irradiadas experimentaron un aumento relativo del número de gérmenes por gramo, a lo largo del almacenamiento, encontrándose en el nivel de rechazo ($1,00 \times 10^6$) en el día 11 para el testigo y en el día 69 para 1 kGy.

Es necesario hacer notar que la temperatura de incubación empleada ($22\text{ }^\circ\text{C}$) es la recomendada para este tipo de productos y se dice que los recuentos resultan ser 10 veces más altos que si se emplea la temperatura de $35\text{-}37\text{ }^\circ\text{C}$ [12].

3.4 Análisis químico

3.4.1 Bases volátiles totales nitrogenadas

Como se sabe la mayor parte de los ensayos de frescura para la determinación de calidad están basados en la detección y posterior

medida de compuestos de degradación, producidos por desarrollo microbiano, tales como ácidos, aminos y demás bases volátiles[13]. Por este motivo en el presente estudio se realizaron las determinaciones de N-BVT (mg de N/100g) paralelas a los análisis microbiológicos y sensoriales con la finalidad de establecer la correlación existente entre ellos durante el almacenamiento y las ventajas de la irradiación en estos aspectos.

Como se puede observar en la figura 2, las bases volátiles totales presentan un comportamiento diferente en las muestras irradiadas con respecto a las muestras testigos para diferentes días de almacenaje. Así mientras el contenido de bases volátiles totales crece en forma acelerada en los choros no irradiados a partir del 6to día, en el producto irradiado se mantuvieron los valores bajos hasta el día 11 a partir del cual presentan un incremento moderado. Algunos autores afirman [14] que se obtiene un aumento permanente de ácidos y bases en los productos marinos de alto porcentaje proteico no irradiados una vez que el número de gérmenes por gramo es superior a 10^8 , esto implica indudablemente que son de escaso valor como índice de calidad ya que con estos resultado dichos productos se encuentran en franca descomposición. Así las bases volátiles resultan ser buenos índices solo para el producto no irradiado, ya que en estas muestras, su comportamiento se va incrementando a través del período de almacenamiento considerado.

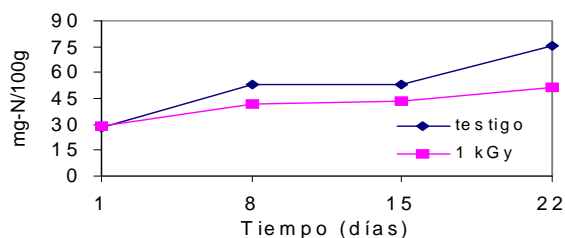


Figura 2. Variación del contenido de bases volátiles totales en muestra control e irradiada.

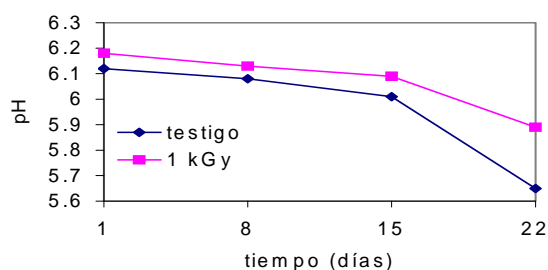


Figura 3. Variación del pH en muestra control e irradiada.

3.4.2 pH

En la figura 3, se observa que el pH inicial de ambas muestras indican valores ligeramente menores que el sugerido por Maza [9], quien señala un rango de 6,3 a 6,9 para calificar un choro de buena calidad. Esto se explica porque los choros adquiridos en el Terminal Marítimo de Villa María tenían entre 12 y 15 horas de haber sido extraídos, debido a la distancia del lugar de extracción. El pH de ambas muestras disminuye ligeramente hasta el día 15 del almacenamiento, no habiendo mucha diferencia entre ellas. Esto se explica por la actividad proteolítica de bacterias gram-negativas, en el caso de ambas muestras, dado que la dosis de 1 kGy no es lo suficiente elevada como para eliminar esa actividad microbiana. A partir del decimoquinto día, la pendiente de las muestras no irradiadas que es mayor al de las muestras irradiadas, muestra una relación

directa con la población de aerobios mesófilos, alcanzando un pH de 5,65 al final del experimento, que se toma como un indicativo de descomposición; mientras que las irradiadas se ubicaron en un nivel más aceptable.

3.5. Análisis de costos

La Planta de Irradiación Multiuso comenzó a funcionar con carácter comercial en abril de 1996. Tiene un diseño ruso y está incluida en la categoría 4 de irradiadores. La carga nominal inicial fue de 100 kCi habiendo sido cargada con una fuente de cobalto-60 de fabricación argentina. La construcción de esta planta significó una inversión inicial de 2 400 000 dólares. Los costos de operación por año, calculados, alcanzan a cerca de US\$ 590 000 por año, como se especifica en el siguiente cuadro:

Tabla 4. Costos de operación por año, calculados, de la planta de irradiación comercial de Santa Anita.

ITEM	COSTO
Costos de personal	
Jefe de planta	12 960
Jefe de operación	12 600
Asistente de planta	10 800
Control de calidad	8 400
Gerencia	36 000
Administrativo	54 000
Personal obrero	25 200
Servicios	
Mantenimiento (5% valor eq.)	55 000
Utilitarios (Gastos administrativos)	10 000
Recargo de Co-60 (12,5%)	22 500
Servicios (Agua, luz y tel.)	5 600
subtotal	US \$ 253 060

COSTO ANUAL INDIRECTO DE OPERACIÓN

Depreciación, interés y seguros

Depreciación de la inversión total (10%)	240 000
Interés basado en 6% del capital total	72 000
Seguros	24 000
	subtotal
	US \$ 336 000
COSTO ANUAL TOTAL	US \$ 589 060

El costo de tratamiento sería US\$ 80,7/h; si se consideran 365 días de operación al año con dos turnos diarios de 10 horas.

3.5.1. Características del producto

En 1997 se recolectaron 9532 toneladas brutas de choros para consumo humano directo. Debe saberse que toda la producción de choros está destinada al consumo interno local y regional, por lo que el propósito de la irradiación sería ofrecer un producto fresco a través de todo el territorio a donde se expande su consumo.

Para los cálculos de la cantidad de producto que podría irradiarse diariamente se tuvo en cuenta el acondicionamiento de los ejemplares quitándoles las concha superior (semi-desvalvado, con un rendimiento de 70%), pudiendo ser empacados de acuerdo a los estándares internacionales en bolsas de polietileno, dado que la dosis de radiación aplicable para el propósito es bastante baja.

El sistema de transporte del irradiador consta de 45 jaulas con capacidad de 5 cajas de 80 litros cada una. Para la aplicación de 1 kGy con un promedio de exposición de cada jaula de 11 minutos, es posible cargar hasta 109 jaulas por día, teniendo en cuenta que es posible operar durante 20 horas diarias. A partir de una densidad aparente de 0,62; para los choros semidesvalvados, sería posible irradiar a 1 kGy hasta 22,5 Ton /día; a un costo neto de US\$ 0,07 por kg.

4. CONCLUSIONES

El valor D_{10} fue de 0,138 kGy con un coeficiente de determinación R^2 de 0,914 por lo que es necesario aplicar 8D (población promedio que puede causar la enfermedad en choros, que es equivalente a una dosis de 1,102 kGy).

La materia prima con la cual se trabajó para la determinación de la vida útil en almacenamiento es considerada en nuestro país como de muy buena calidad (producto normalmente así consumido), a pesar de que presentó recuentos bacterianos altos comparados con los estándares de calidad microbiológico internacionales debido a las deplorables condiciones

sanitarias, durante la comercialización.

Inmediatamente después de la irradiación la dosis de 1 kGy reduce la población microbiana de la materia prima en 1,831 log, y al final del almacenamiento de 22 días se mantiene muy por encima de los límites microbianos aceptables.

La regresión lineal nos indica que recién a los 69 días de almacenamiento las muestras irradiadas serían descartadas desde el punto de vista microbiológico.

Desde el punto de vista sensorial en estado crudo se concluye que la vida útil para choros en la característica apariencia fue de 14 días para el testigo y de 31 días para las irradiadas a 1 kGy. En cuanto al olor el testigo llega a 12 días y el irradiado 22 días. La textura alcanza 24 días a 1 kGy y 15 días el testigo.

Desde el punto de vista sensorial en estado cocido se concluye que la vida útil para el sabor se extendió a 30 días con dosis de 1 kGy comparado con los 14 días del testigo; tomando en cuenta el olor ésta llegó a 35 días en el irradiado, mientras que el testigo solo 15 días, y la textura permite 46 días de almacenamiento para muestras tratadas y 22 días para el control.

El análisis de nitrógeno de las bases volátiles Totales no es un buen índice de calidad para choros irradiados, no así para el mismo producto sin irradiar.

REFERENCIAS

- [1]. IAEA/FAO/PAHO/WHO, Technical consultation on irradiation as a public health intervention measure for control foodborne disease in Latin America and the Caribbean, Washington (1992).
- [2]. OPS/OMS, Riesgo de transmisión del cólera por los alimentos RIMS A 7/22, Washington D C EUA (1991) 10.A.
- [3]. IAEA/FAO/PAHO/WHO, Second meeting of the IAEA/FAO/PAHO/WHO coordinated research project on use of irradiation as a public health intervention a leisure to control foodborne disease in Latin America and

- the Caribbean, Tampa (1997).
- [4]. KILLORAN, J.J., Adv. Chem. Ser. 135 (Chem. Food packag.) (1974) 87pp.
- [5]. CARVAJAL, C., AYALA. G.M., SIRVAS C. S., Microbiología de alimentos marinos, CONCYTEC, Lima (1991) 55-57.
- [6]. MUÑOZ, B.R., UGÁZTEGUI, A.E., VACA, F.C., Preservación de alimentos por irradiación. Instituto de Ciencias Nucleares (1985) 160 pp.
- [7]. SINGSON, C., Technoeconomic feasibility of food irradiation in the Philippines. STI/PUB/883 IAEA, Vienna (1992) 159 pp.
- [8]. CONWAY and BYRNE, Métodos de microdifusión en bioquímica (1933) 41 pp.
- [9]. MAZA, R.S., Manual de procesamiento y control de calidad del langostino (1986) 1-30.
- [10]. OPS/OMS, Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública. Ed. por Claudio Almeida (1996) 3-4.
- [11]. GARDNER, E. A., WATTS, B. M., Effect of ionizing radiation on southern oysters, Food Technol. 11 (1959) 329 pp.
- [12]. FIGUEROA, C., Efecto del pretratamiento con soluciones de tripolifosfato en filetes de merluza radurizados, Comisión Chilena de Energía Nuclear Santiago de Chile (1979) 48 pp.
- [13]. GALLARDO, S.M., El contenido de bases volátiles como índice del grado de frescura en productos pesqueros, Informe Tec. Inst. Inv. Pesq. (1978) 58 pp.
- [14]. MAYNARD, A., STEINBERG, The atom preserves seafoods. Proceeding of the gulf and caribbean fishing institute (1965) 56-63.