EVALUACIÓN DE FILETES DE TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) ENVASADOS EN ATMÓSFERA MODIFICADA

TILAPIA FILLETS (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) PACKED IN MODIFIED ATMOSPHERE

Maritza Barriga, Marjorie Cueto, Yván Llave, Edison Romero
Dirección de Investigaciones. Instituto Tecnológico Pesquero del Perú.
Carretera a Ventanilla km. 5,200 Callao mbs@itp.org.pe

RESUMEN

BARRIGA M, CUETO M, LLAVE Y, ROMERO E.- 2006.- *Evaluación de filetes de "tilapia" (Oreochromis niloticus) envasados en atmósfera modificada.- Bol. invest. Inst. tecnol. pesq. Perú.7: 91-100.-* Se evaluaron los cambios sensoriales, físico químicos y microbiológicos en filetes de tilapia envasados en atmósferas modificadas (T1:40/30/30:CO2/O2/N2 y T2:60/40 CO2/N2) y almacenados en hielo durante 22 días. La mezcla de gases más efectiva fue T2. La evaluación sensorial determinó una vida útil de 7 días para T, 11 días para el T1 y 15 días para el T2. El valor K indicó valores cercanos a 15% para una calidad "excelente" y valores cercanos a 25% para una "buena calidad". Valores de BVN –T y de TMA no indicaron deterioro del producto y no se detectó la presencia de *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Staphylococcus aureus y Clostridium botulimnum.*

PALABRAS CLAVE: atmósfera modificada, tilapia, *Oreochromis niloticus*, análisis sensorial, Valor K, análisis microbiológicos.

ABSTRACT

BARRIGA M, CUETO M, LLAVE Y, ROMERO E.- 2006.- *"Tilapia" (Oreochromis niloticus) fillets packed in modified atmosphere. Bol. invest. Inst. tecnol. Pesq. Perú.7: 81-100.-* Sensorial, chemical, physical and microbiological changes of Tilapia fillets packed in modified atmospheres (T1:40/30/30:CO2/O2/N2 and T2:60/40 CO2/N2) and stored in ice during 22 days were evaluated. The best gas combination was T2. Sensorial evaluation determined 7 days for the T, 11 days for T1 and 15 days for T2. The K value around 15% corresponded to "excellent" quality, and values about 25% to "good quality". BVN - T and TMA values did not indicate deterioration of the product. The Enterobacteria counts remained without major changes. *Salmonella* spp, *Listeria* spp, *Staphylococcus aureus* and *Clostridium botulimnum* were not detected.

KEYWORDS: modified atmosphere, Tilapia, *Oreochromis niloticus*, sensorial analysis, Kvalue, microbiological analysis.

INTRODUCCIÓN

El envasado de alimentos en atmósfera modificada (EAM) implica la sustitución del aire del interior del envase por un gas o mezcla de gases, principalmente dióxido de carbono (CO_2), oxígeno (O_2) y nitrógeno (N_2). La combinación de EAM y almacenamiento en refrigeración, inhibe el crecimiento microbiano, reduce la formación de bases volátiles totales (BVT) y trimetilamina (TMA); además retarda las alteraciones en la funcionalidad proteica,

prolongando la vida útil de los productos pesqueros[1].

El efecto del CO_2 se incrementa a bajas temperaturas debido al aumento de su solubilidad y al descenso de pH debido a la disociación en agua de H^+, HCO_3^- y CO_3^{2-} (KNOCHE 1980 cit. por OGRYDZIAK y BROWN 1982, PARRY 1995)[2,3], siendo su solubilidad máxima a 0 °C y presión parcial de una atmósfera. Otro de los gases empleados en EAM, es el nitrógeno, gas inerte de baja solubilidad en agua y grasas que permite retardar los procesos de oxidación (PARRY 1995, ZHAO y WELLS 1995)[3,4].

La tecnología de EAM aplicada en productos pesqueros de alto valor comercial, constituye una alternativa importante para la distribución de productos frescos refrigerados con mayor vida útil, de acuerdo a la tendencia actual del mercado y facilitando de esta forma su venta al menudeo. Al respecto, han sido referidos estudios en merluza en EAM almacenada en hielo durante tres semanas, sin pérdida de calidad importante (PASTORIZA y col., 1996 citado en ÖZOGUL.2004)[10].

Una especie continental de carne muy agradable y cuyo cultivo va en aumento para consumo como fresco y en forma de producto congelado[5,6], es la tilapia (*Oreochromis niloticus*). Las principales empresas dedicadas a su cultivo se encuentran en Piura, lugar en el cual cabe señalar que esta especie cuenta con mayor posibilidad de desarrollo, siendo su producción estimada de 2000 t para los próximos años[29].

La aplicación de EAM en especies de acuicultura, constituye una tecnología de postcaptura viable, que facilita la oferta de esta especie a mercados internacionales, lo cual ha sido tomado como referencia para la ejecución del presente estudio, evaluando la estabilidad de filetes de tilapia EAM almacenados en hielo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Materia prima

44 especímenes de "tilapia" fueron adquiridos vivos de un establecimiento comercial, sacrificados por hipotermia en agua a 0 °C, fileteados y almacenados en hielo. Los filetes tuvieron una longitud total promedio de 21 ± 3 cm, peso promedio: 122 ± 7 g y rendimiento (entero a filete con piel) de 36%. La composición química del filete[7] con piel fue: proteína 19,3%, grasa 3,4%, ceniza 1,2% y agua 76%.

Los filetes fueron lavados en agua con 0,5 ppm hipoclorito de sodio, luego drenados y envasados, colocando dos filetes en una bandeja de espuma de poliestireno con almohadillas absorbentes en la base de la misma, recubierta con lámina plástica de etilen vinil alcohol (EVOH), con espesor de 60 μm y una tasa de permeabilidad al oxígeno (TPO2) de 5 $cm^3/m^2/$día a 25 °C, 80% HR y 1 atmósfera de presión. El sellado térmico de la lámina fue realizado previa modificación de la atmósfera interna con mezclas de gases (grado alimentario, Praxair – Perú) en relación 3:1 (gas:producto) utilizando una máquina selladora de bolsas con entrada de gases MULTIVAC (Cryovac Sealed Air) a 550 milibares de presión.

Las muestras fueron mantenidas a 1 ± 1 °C y almacenadas por 21 días. Las mezclas de gases aplicados fueron T1: 40/30/30 ($CO_2/O_2/N_2$) y T2: 60/40 (CO_2/N_2), se mantuvo un grupo de muestras testigo (T) sin modificación de atmósfera.

Tabla 1.- Tabla de evaluación sensorial para tilapia fresca

Atributo	Descripción	Puntaje
Apariencia y textura (Músculo crudo)	Muy firme, muy elástico, carne blanca, la piel muy adherida al músculo.	4
	Firme, poco elástico, carne blanca, la piel adherida al músculo, pequeña zona superficial rojiza.	3
	Poco firme, zonas de color rojiza, pequeña mancha oscura en la zona caudal o en la zona abdominal.	2
	Blanda, zonas oscuras. El músculo se desprende con facilidad.	1
Olor (Músculo crudo)	No tiene olor u olor muy ligero a pescado	4
	A pescado	3
	Intenso a pescado	2
	Carne pasada/rancia	1
Olor y Sabor (Músculo crudo)	Olor y sabor tenue a pescado. Es agradable	4
	Buen olor y sabor a pescado.	3
	Olor y sabor intenso a pescado. Es aceptable	2
	Olor y sabor desagradable. Inaceptable	1

Evaluaciones

Evaluación sensorial

Fue realizada por un panel entrenado, empleando la Tabla 1, previamente preparada para evaluar la textura y el olor de las muestras crudas; y el olor y sabor en las muestras cocidas. Los calificativos (Sumatoria de puntaje de atributos) fueron: excelente 11 - 12, Bueno 8 a <11, aceptable (límite) 6 a <8 y malo 3 a <6.

La determinación de exudado o goteo fue realizada por diferencia de peso de las almohadillas absorbentes y expresada en porcentaje.

Evaluaciones químicas

Bases volátiles nitrogenadas (N-BVT) mediante el método de microdifusión de Conway[8]; determinación de Trimetilamina (N-TMA) siguiendo el método de Dyer modificado. Los nucleótidos fueron determinados de acuerdo a Ryder[9] y el valor K como indicador de frescura fue calculado de acuerdo a la ecuación descrita por Saito, Aray y Matsuyochi (1959)[17]:

$$\text{Valor K (\%)} = \frac{[(Hx+Ino)}{(ATP+ADP+AMP+IMP+Hx+Ino)]} \times 100$$

Se midió el pH con el potenciómetro digital marca Toa HM 58 S, y un electrodo de muestras semisólidas de la marca Ohaus.

Se aplicó ANVA con dos factores: tiempo de almacenamiento y tratamientos a los valores K obtenidos en el periodo de estudio.

Evaluaciones microbiológicas

Numeraciones de aerobios mesófilos (FDA – BAM)[11], bacterias acidolácticas (BAL), bacterias psicrófilas (PS) mediante las metodologías del APHA y *Staphylococcus aureus* [12].

Detecciones de *Salmonella* spp., *Listeria* spp. y *Clostridium botulinum* FAO[14].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis sensorial

En la Figura 1 se aprecia que hasta los 3 días de almacenamiento todas las muestras mantuvieron el calificativo "excelente" (figura 2) y a los 7 días mostraron una reducción a valores cercanos a 9, considerándose "bueno". Los principales cambios observados durante este período fueron los referidos a la apariencia de los filetes, en especial la aparición de una pequeña zona superficial rojiza.

A los 11 días de almacenamiento, se observaron las primeras diferencias de calidad entre las muestras. Las T2 presentaron mejor olor en el músculo cocido que en el crudo y un mayor puntaje que T1 y T, encontrándose este último en el límite de aceptación. Los tratamientos EAM obtuvieron una calificación de buena calidad.

A los 15 días los tratamientos en EAM se mantuvieron aceptables mientras que T fue rechazado. A los 18 días, T1 y T2 mostraron cambios similares en la apariencia, presentaron una mancha oscura en la zona caudal y abdominal, color amarillento con zonas oscuras (Figura 3), probablemente causados por la presencia de CO_2 en los envases. Así mismo, el olor y sabor a pescado de las muestras cocidas fueron muy intensos, lo cual, sumado a su textura blanda, determinó su calificación muy cercana al límite de aceptación.

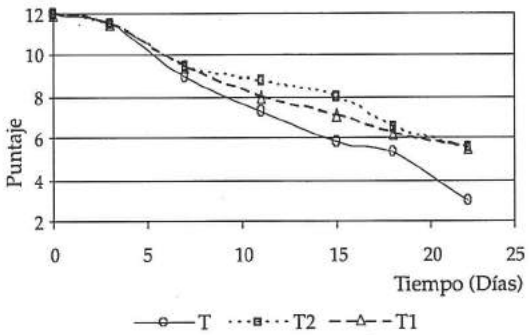

Figura 1. Resultados de la evaluación sensorial de filetes de tilapia almacenados en hielo.

El tiempo de vida útil observado en las muestras T1 y T2, demostró el efecto de la aplicación de EAM, al superar en tres días al testigo (T). Los resultados de este estudio fueron cercanos a los de HEIDMAN[16], quien refiere para el mismo producto empacado en 60/40 (CO_2 /N_2) una vida útil de 20 días. No obstante, fue menor al referido por REDDY y COL[15], en filetes de tilapia empacados con 75/25 (CO_2 /N_2), cuya vida útil fue de 25 días.

Es importante referir la ocurrencia del colapso de los envases en las muestras EAM, lo cual podría ser explicado con lo señalado por PARRY, quién en estudios similares refiere que el CO_2 es absorbido por el producto, reacciona con el agua, reduce la presión interna del envase, y provoca un efecto en la reducción de su volumen con la consiguiente deformación del envase[3].

Exudado o goteo

El valor de exudado de las muestras T varió muy poco, por debajo de 1%. Los tratamientos T1 y T2 presentaron mayor variación, debido a la presencia de CO_2, (Figura 4) que al transformarse en ácido carbónico, forma una superficie ácida en el músculo, reduciendo el pH y la capacidad de retención del agua, provocando mayor formación de exudado (REDDY et al., 1992 citado en PHILLIPS 1996)[18].

Cabe mencionar que aunque el exudado o goteo en las muestras envasadas de los dos tratamientos EAM se incrementaron hacia el final del tiempo de almacenamiento, éstos valores en general no fueron muy

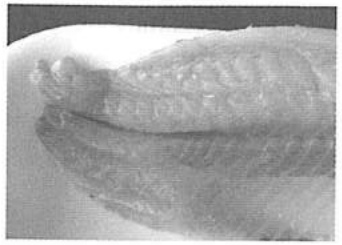

Figura 2. Muestra inicial

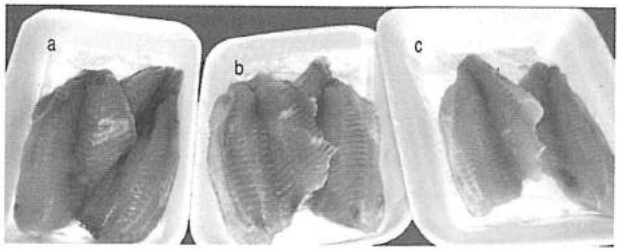

Figura 3. Muestras almacenadas durante 22 días.
a: aire, b: 40/30/30 ($CO_2/O_2/N_2$), c: 60/40 (CO_2/N_2)

elevados (<5 g de agua desalojada por cada 100 g de filete).

La formación de exudado es típica en productos pesqueros EAM, tal como lo afirmó PARRY[3], quien encontró para este tipo de alimentos, la posibilidad de controlar el problema de exudado o goteo limitando la cantidad de CO_2 (no >60%) y utilizando almohadillas absorbentes. Sin embargo, como se puede apreciar en el presente estudio, a partir de los 15 días, T1 que contenía menor cantidad de CO_2 (40%) presentó mayores cantidades de exudado que T2 (60%), aún cuando estos valores en general se consideran bastante bajos.

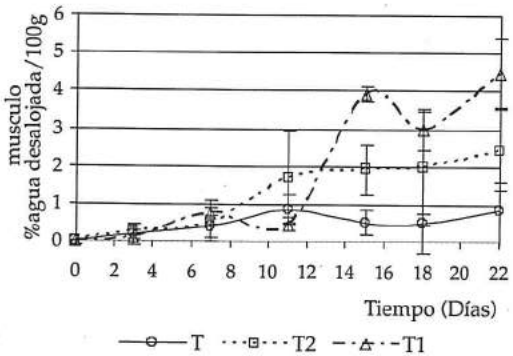

Figura 4. Porcentaje de exudado en filetes de tilapia almacenados en hielo.

Valor de pH

El valor de pH inicial en las muestras fue 6,5. A los 3 días todas las muestras presentaron una leve caída, a los 7 días el testigo mantuvo su valor mientras que las muestras EAM bajaron hasta valores cercanos a 5, lo cual refleja el efecto de la formación de ácido carbónico debido a la presencia de CO_2; posteriormente los valores fueron fluctuantes presentando al final del estudio valores alrededor de 6 (Tabla 2).

Tabla 2.- Valores de pH de filetes de tilapia almacenados en hielo.

pH	T	T2	T1
0	6,5 ± 0,1	6,4 ± 0,1	6,5 ± 0,1
3	5,9 ± 0,1	5,5 ± 0,1	5,9 ± 0,1
7	5,8 ± 0,0	5,1 ± 0,1	5,2 ± 0,0
11	6,2 ± 0,1	6,1 ± 0,0	6,3 ± 0,1
15	5,5 ± 0,1	6,2 ± 0,1	6,2 ± 0,1
18	6,2 ± 0,1	5,6 ± 0,0	5,8 ± 0,1
22	6,2 ± 0,1	6,0 ± 0,0	6,2 ± 0,1

Degradación de nucleótidos y valor K

Las figuras 5 y 6 muestran la disminución de IMP, compuesto responsable del sabor agradable; y el incremento de hipoxantina (Hx) que se relaciona con el sabor amargo de la carne.

Hasta los 15 días no se observaron diferencias en todas las muestras respecto al comportamiento de reducción de IMP desde un valor inicial de 83,2 %, y de incremento de Hx a partir de un valor inicial de 0,5%.

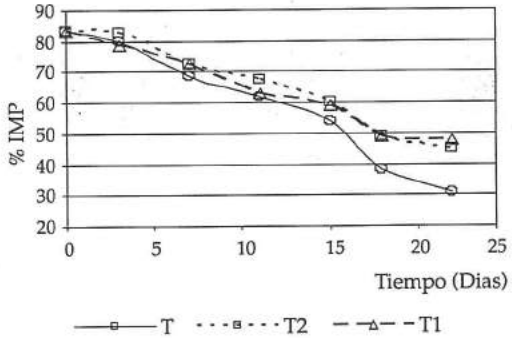

Figura 5. Variación de IMP en filetes de tilapia almacenados

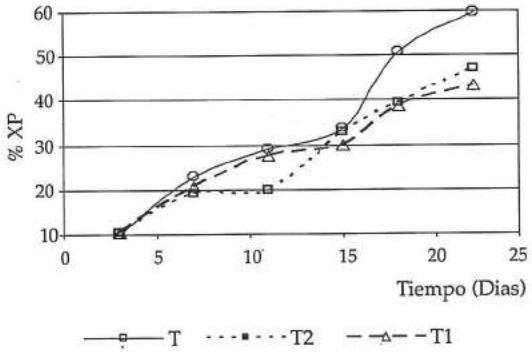

Figura 6. Variación de Hx en filetes de tilapia almacenados en hielo.

A partir de los 15 días el comportamiento antes descrito se hizo más evidente en el tratamiento T, lo que coincidió con el rechazo sensorial. Los tratamientos EAM fueron rechazados a los 18 días indicando un retardo de la actividad enzimática del músculo en estas muestras.

En la tilapia, la hidrólisis de IMP resultó en concentraciones de Hx mayores a la Inosina (Ino) lo cual podría ser atribuido a la actividad nucleótido fosfatasa y a la nucleósido hidrolasa[17],

En relación al Valor K (Figura 7), se conoce que el pescado recién capturado presenta un rango de 5 a 10%, "muy fresco" hasta 20%; y en el límite de consumo valores entre 40 a 60%[19]. De acuerdo a estos rangos, en el presente trabajo el testigo hasta los 5 días y los tratamientos T1 y T2 hasta los 6 días, fueron considerados "muy frescos" presentando valores alrededor de 20% ("buena calidad"). Posteriormente, a los 15 días los valores sufrieron un incremento a 35% en T; y a los 18 días T1 y T2 presentaron valores cercanos a 40%. Estos valores mantuvieron concordancia con la evaluación sensorial.

Los tratamientos aplicados, el tiempo de almacenamiento y la combinación de ellos ejerce un efecto en el valor K ($p<0,05$ y $r^2=0,967$) no existe diferencia significativa entre T1 y T2 pero si con T, demostrandose

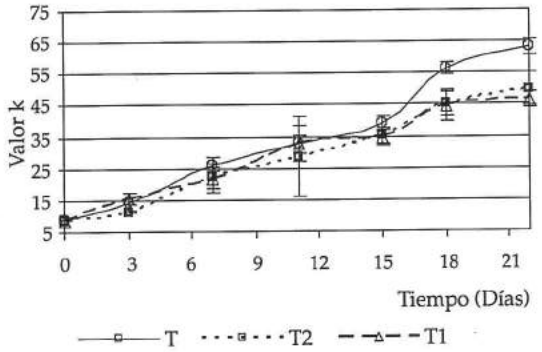

Figura 7.- V K de filetes de tilapia almacenada en hielo

los beneficios de la aplicación de la tecnología EAM. Similares resultados encontraron Özogul y col[20], en *Clupea harengus* almacenado en hielo EAM.

Bases volátiles nitrogenadas(N-BVT) y trimetilamina (N-TMA).

Es conocido que el N-BVT y N-TMA se relacionan directamente con la actividad

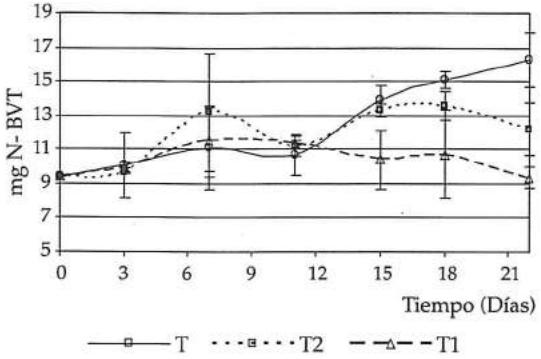

Figura 8. - Resultados de N-BVT en filetes de tilapia almacenados en hielo.

microbiana, más que con la actividad enzimática. BOTTA[21] sugirió valores de N-BVT para calificar la frescura en el pescado : 5 a 10 mg Muy fresco, 10 a 20 Fresco y a partir de 30 Mala calidad. Por otro lado, HEIDMANN (2002)[16] determinó 16 mg N-BVT/100g en tilapia almacenada por 20 días en EAM con 60/40 (CO_2/N_2). Al respecto SIVERTSVIK y col.[27] confirman valores bajos de N-BVT en el pescado almacenado en CO_2, BANKS et al. 1980, citado en SIVERTSVKI y col [27] indican que el pescado almacenado en CO_2 tiene un diferente tipo de deterioro en comparación con el pescado almacenado en hielo y que el N-BVT no es un indicador de deterioro.

El valor inicial en las muestras fue de 9,4 mg N-BVT/100g, hasta los 3 días no se observaron variaciones entre las muestras EAM y el testigo.

A partir del día 12 se observó que T1 permaneció con valores aproximadamente constantes (Figura 8). A los 15 días los valores de T1 se mantuvieron constantes mientras que T2 y T aumentaron levemente. El contenido de N-BVT en T (16,3 mg N-BVT/100g) incrementó considerablemente al término del estudio respecto a T1 y T2 (9,3 y 12,2 mg N-BVT/100g respectivamente). Todos los tratamientos presentaron valores por debajo de los límites y no fueron concordantes con los resultados de la evaluación sensorial.

Estos resultados confirman que este análisis no es un indicativo de frescura.

En la Figura 9 puede observarse, que la formación de N-TMA fue similar en los 3 tratamientos hasta los 11 días (valores menores a 0,5 mg N-TMA/100g), posteriormente la diferencia en el contenido de N-TMA fue muy notoria. El testigo presentó mayores valores desde los 15 días, tiempo que coincidió con el rechazo sensorial. Este comportamiento se observó en los tratamientos EAM a los 18 días, con posterior caída de los valores.

Los valores obtenidos son menores a los respectivos de pescado marino. Al respecto, RYDER y col. (1984) encontraron 2 mg de N-TMA/100g en músculo de *Trachurus novoezelandiae* después de 12 días en hielo con un drástico incremento asociado a un alto conteo de bacterias (10^6 UFC/g músculo), por otro lado MARRAKCHI y col. 1990, encontraron una moderada frescura cuando el

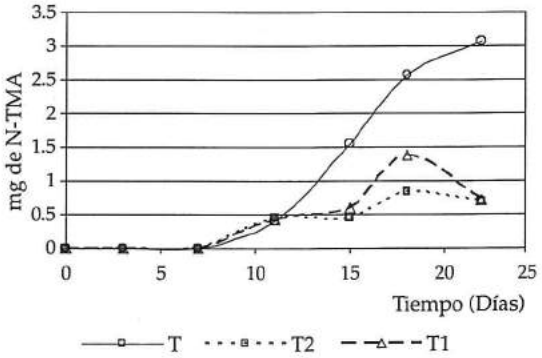

Figura 9.- Resultados de TMA en filetes de tilapia almacenados en hielo.

músculo de *Sardinops pilchardus* llegó a 4,8 mg N-TMA /100 g, luego de 9 días de almacenamiento en hielo; la misma muestra llegó a valores de 10,8 mg N-TMA /100g en 18 días. EHIRA y UCHIYAMA (1986) consideraron el pescado de mediana calidad con contenidos de 1,4 mg N-TMA/100g[22], mientras que READY y col.[28] 1996, encontraron 14,3 y 10,07 mg de N-TMA/100 g en filetes de tilapia deteriorados, luego de estar almacenados a 8 °C durante 6 días (aire) y 16 días (EAM), respectivamente.

Numeración de aerobios mesófilos

La carga inicial de microorganismos mesófilos fue 6 x 10^3 UFC/g. De acuerdo a los límites propuestos[26y13] (referidos en 5 x 10^5 UFC/g) los recuentos superaron estas recomendaciones a los 11 días en las muestras testigo y a los 18 días en las correspondientes a los tratamientos EAM (Tabla 3), lo cual demuestra el efecto de la aplicación de gases, especialmente del CO_2 en el envasado de los productos.

En el caso de las muestras EAM, se puede apreciar que la muestra T1 representa recuentos ligeramente mayores que T2,

Tabla 3: Numeración de mesófilos en filetes de tilapia almacenados en hielo. (Log UFC/g)

Tiempo (días)	Tratamientos		
	T	T1	T2
0	3,8	3,8	3,8
3	4,3	4,3	3,8
7	4,1	4,2	4,6
11	5,3	4,7	4,6
15	6,3	4,9	4,9
18	6,5	5,8	5,4
22	–	6,9	6,5

debido a la presencia de oxígeno en la atmósfera del primer tratamiento. El crecimiento microbiano observado en las muestras (T2), carentes de oxígeno, podría ser explicado por el comportamiento de algunas bacterias de deterioro que utilizan TMA, como aceptor de hidrogeno terminal, lo cual les permite crecer bajo condiciones anóxicas (REDDY, citado por SIVERTSVIK[24])

Según BRODY[25], la aplicación de EAM podría duplicar la vida útil del pescado fresco, dependiendo de su calidad inicial. Los resultados del presente trabajo corroboran lo enunciado por dicho autor, pues los tratamientos también resultaron ventajosos. El testigo presentó una carga inicial de 6x10^3 UFC/g y alcanzó 11 días de vida útil y T2 la prolongó hasta 18 días. Al respecto, ÖZOGUL[10] en un estudio con sardina almacenada en EAM (40/60 N/CO2), consideró como limite 10^6 UFC/g para conteo de mesófilos viables, niveles alcanzados a los 10 días de almacenamiento.

Numeración de aerobios psicrófilos

El incremento de N-TMA observado en la Figura 9 a partir del día 11, en especial para el tratamiento T, puede ser relacionado con el aumento de la carga microbiana psicrófila (Tabla 4), a la cual se le atribuye ser indicador de deterioro en pescado fresco (DALGAARD y col., GRAM y col., HOZ, LÓPEZ – CABALLERO, citados por GOULAS)[23].

El menor incremento de carga psicrófila a través del tiempo de estudio fue observado en las muestras EAM. El mayor incremento de TMA se registró a partir de 18 días, y fue más acentuado en T1 cuya atmósfera contenía 30% de oxígeno, condición que favoreció el crecimiento de las mencionadas bacterias.

Tabla 4. Numeración de psicrófilos en filetes de tilapia almacenados en hielo. (Log UFC/g)

Tiempo (días)	Tratamientos		
	T	T1	T2
0	3,9	3,9	3,9
3	4,4	4,3	4,1
7	5,0	4,6	4,7
11	6,7	5,2	5,1
15	7.6	6.1	5.3
18	8.2	5.8	5.5
22	–	6.8	6.1

Durante el periodo de evaluación microbiológica en todas las muestras se observó la ausencia de *Staphylococcus aureus, Salmonella* spp., *Listeria* spp y *Clostridium botulinum*.

REFERENCIAS

1. Simpson R. Envasado en atmósfera modificada (map) para pescados: aplicaciones tecnológicas y transferencia de masa. Universidad Técnica Federico Santa María. Departamento de Procesos Químicos, Biotecnológicos y Ambientales. Avenida España 1680, Casilla 110-V, Valparaíso,
2. Ogrydziak D, Brown W. 1982. Temperature effects in modified-atmosphere storage of seafoods. Food Tech. May: 86-96.
3. Parry R T. 1995. Pescados. Envasado de los Alimentos en Atmósfera Modificada. Edit. R T Parry, A Madrid Vicente, Ediciones. Madrid, España. pp. 214-256.
4. Zhao Y, Wells J. 1995. Method for measuring CO_2 absorption in CO_2 and N_2 packaged fresh meat. J. Food Proc. Engineering, 18: 383-395.
5. PRODUCE. 2003. Anuario Estadístico. Oficina general de Tecnología de la Información Estadística. Lima, Perú., 231pp. p. 38.
6. PRODUCE. 2004. Anuario Estadístico. Oficina general de Tecnología de la Información Estadística. Lima, Perú. 222 pp. p 32.
7. FAO .1986. Food analysis: general techniques, additives, contaminants, and composition. Food and Nutrition Paper T14/7
8. Conway E. J. and Byrne. 1933. An absorption apparatus for the micro determination of certain volatile substances. Biochem. J. 27, 419-429.
9. Ryder .1985. Determination of Adenosine Triphosphate and its Breakdown Products in fish muscle by High Performance Liquid Chromatography. J. Agric. Food Chem. 33, 678-680.
10. Özogul. F, Polat A., y Özogul Y. 2004. The effects of modified atmosphere packing and vacuum packing on chemical, sensory and microbiological changes of sardine (*Sardina pilchardus*). Food chem. 85 (49- 47).
11. FDA – BAM.2001. Bacteriological analytical manual online – aerobic plate count.
12. APHA. 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of food. 3rd edition. 2251- 231, 153 – 163.
13. ICMSF. Microorganismos de los alimentos. Técnicas de análisis microbiológicos. Volumen I. Ed Acribia, España. Pp. 145 – 146.
14. FAO. 1992. Manual of food quality control 4. Rev. 1. Microbiological analysis. Pp 27 – 48, 119 – 130, 135-138, 213 – 219.
15. Reddy N, Shreiber C, Buzard K, Skinner G, Armstrong D. 1994. Shelf life of fresh Tilapia fillets Packaged in high Barrier Film with Modified Atmospheres. J. Food Sci. Vol 59, N°2. 1994.
16. Heidmann M. 2002. Optimización de la vida útil de tilapia cultivada (*Oreochromis niloticus*), mínimamente procesada y almacenada bajo refrigeración. Tesis de Maestría en Ciencias. Área de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Univ. de Sao Paulo. 124 pp.
17. Ehira S. 1976. A Biochemical Study on the Freshness of Fish. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab N° 88.
18. Phillips C.1996. Review: Modified atmosphere packaging and its effects on

the microbiological quality and safety of produce. International J. Food Sci. Tech. 31: 463-479.

19. Huss H H. 1998. El Pescado Fresco: su calidad y cambios de su calidad. FAO Documento técnico de pesca 348.
20. Özogul F, Taylor K.D.A., Quantick P., Özogul Y. 2000. Chemical, microbiological and sensory evaluation of Atlantic herring (*Clupea herengus*) stored in ice, modified atmosphere and vacuum pack. Food chem. 71: 267 – 273.
21. Botta J R, Lauder J T, Jewer M A. 1984. Effect of Methodology on total Volatile Basic (TVB-N) Determination as an index of Quality of fresh Atlantic Cod (*Gadus morhua*). J. food Sci. 49: 734 -750.
22. Pacheco-Aguilar R., Lugo-Sánchez M.E. and Robles –Burgueño M.R. 2000. Post mortem biochemical and functional characteristic of Monterrey Sardine Muscle Stored at 0°C J.F.S 200.vol 65.N°1 40-46
23. Goulas E. Chouliara I., Nessi E., Kontominas M.G. and Savvaidis I.N. 2005. Microbiological, biochemical and sensory assessment of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) stored under modified atmosphere packaging. J. appl. microb. 98, pp.752-760.
24. Sivertsvik, M., Jeksrud W.& Rosnes T. 2002. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safe. Int. J. Food Sci. Tech. 37, 107 – 127.
25. Brody A. (1996). Envasado de alimentos en atmósferas controladas, modificadas y a vacío. Ed. Acribia, Zaragoza (España). 213 pp: 73 -75.
26. DIGESA. 2003. Criterios microbiológicos de calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Diario el Peruano – Normas legales, Lima. p 246857.
27. Sivertsvik M, Jeksrud W, Tosnes T. 2002. Modified atmosphere packaging of fish. Int. J. Food Sci. and Tech. 2002,37, 107-127
28. Reddy N R, Paradis M G, Roman M G, Solomon M, Rhodehamel. 1996. Toxin Development by *Clostridium botulinum* in Modified atmosphere-Packaged Fresh Tilapia Fillets During Storage, J. Food Sci. 61 (3): 632:635.
29. www.produce.gob.pe/mipe/dna/doc/Panorama.Acuicultura.pdf. Octubre 2006.