UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

T E S I S

Efecto conservador de la aplicación de lactato de calcio y ultrasonido en carne de conejo envasada al vacío y refrigerada

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTAN:

MAYRA LIZET CONTRERAS CRUZ

BEATRIZ GUADALUPE GARCÍA ROSAS

ASESOR:

DRA. ADRIANA LLORENTE BOUSQUETS

COASESOR:

M. EN C. GUADALUPE AURA ÁLVAREZ CAMACHO

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2021

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Votos aprobatorios

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

VOTO APROBATORIO

ASUNTO:

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis**

Efecto conservador de la aplicación de lactato de calcio y ultrasonido en carne de conejo envasada al vacío y refrigerada.

Que presenta la pasante: **Beatriz Guadalupe García Rosas**
Con número de cuenta: **313282355** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de Abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en E. Fernando Flores Benítez	
VOCAL	Dra. Adriana Llorente Bousquets	
SECRETARIO	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Elisa Gutiérrez Hernández	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Jonathan Pablo Paredes Juárez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMO/javg

VOTO APROBATORIO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

VNIVERSIDAD NACIONAL AVTONOMA DE MEXICO

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el trabajo de: **Tesis**

Efecto conservador de la aplicación de lactato de calcio y ultrasonido en carne de conejo envasada al vacío y refrigerada

Que presenta la pasante: **Mayra Lizet Contreras Cruz**

Con número de cuenta: **415001738** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de Abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en E. Fernando Flores Benitez	
VOCAL	Dra. Adriana Llorente Bousquets	
SECRETARIO	I.B.Q. Saturnino Maya Ramirez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Elisa Gutiérrez Hernández	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Jonathan Pablo Paredes Juárez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/jvg

VNIVERSIDAD NACIONAL
AVTONOMA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis**

Efecto conservador de la aplicación de lactato de calcio y ultrasonido en carne de conejo envasada al vacío y refrigerada.

Que presenta la pasante: **Beatriz Guadalupe García Rosas**
Con número de cuenta: **313262355** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de Abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en E. Fernando Flores Benítez	
VOCAL	Dra. Adriana Llorente Bousquets	
SECRETARIO	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Elisa Gutiérrez Hernández	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Jonathan Pablo Paredes Juárez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMOF/jpvg

VNIVERSIDAD NACIONAL AVTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el trabajo de: **Tesis**

Efecto conservador de la aplicación de lactato de calcio y ultrasonido en carne de conejo envasada al vacío y refrigerada

Que presenta la pasante: **Mayra Lizet Contreras Cruz**

Con número de cuenta: **416001736** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de Abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en E. Fernando Flores Benitez	
VOCAL	Dra. Adriana Llorente Bousquets	
SECRETARIO	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Elisa Gutiérrez Hernández	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Jonathan Pablo Paredes Juárez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/jmg

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: L.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis**

Efecto conservador de la aplicación de lactato de calcio y ultrasonido en carne de conejo envasada al vacío y refrigerada.

Que presenta la pasante: **Beatriz Guadalupe García Rosas**
Con número de cuenta: **313262355** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de Abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en E. Fernando Flores Benítez	
VOCAL	Dra. Adriana Llorente Bousquets	
SECRETARIO	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Elisa Gutiérrez Hernández	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Jonathan Pablo Paredes Juárez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/jmg

VNIVERSIDAD NACIONAL AVTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el trabajo de: **Tesis**

Efecto conservador de la aplicación de lactato de calcio y ultrasonido en carne de conejo envasada al vacío y refrigerada

Que presenta la pasante: **Mayra Lizet Contreras Cruz**

Con número de cuenta: **416001736** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de Abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en E. Fernando Flores Benitez	
VOCAL	Dra. Adriana Lkoente Bousquets	
SECRETARIO	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Elisa Gutiérrez Hernández	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Jonathan Pablo Paredes Juárez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/jvg

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis**

Efecto conservador de la aplicación de lactato de calcio y ultrasonido en carne de conejo envasada al vacío y refrigerada.

Que presenta la pasante: **Beatriz Guadalupe García Rosas**
Con número de cuenta: **313262355** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de Abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en I. Fernando Flores Benítez	
VOCAL	Dra. Adriana Llorente Bousquets	
SECRETARIO	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Elisa Gutiérrez Hernández	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Jonathan Pablo Paredes Juárez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/jmg

VNIVERSIDAD NACIONAL AVTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

FACULTAD DE ESTUDIOS

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR TOLUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el trabajo de: **Tesis**

Efecto conservador de la aplicación de lactato de calcio y ultrasonido en carne de conejo envasada al vacío y refrigerada

Que presenta la pasante: **Mayra Lizet Contreras Cruz**

Con número de cuenta: **416091736** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de Abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en E. Fernando Flores Benitez	
VOCAL	Dra. Adriana Llorente Bousquets	
SECRETARIO	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Elisa Gutiérrez Hernández	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Jonathan Pablo Paredes Juárez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/jmg

VNIVERSIDAD NACIONAL AVTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis**

Efecto conservador de la aplicación de lactato de calcio y ultrasonido en carne de conejo envasada al vacío y refrigerada.

Que presenta la pasante: **Beatriz Guadalupe García Rosas**
Con número de cuenta: **313262355** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de Abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en E. Fernando Flores Benítez	
VOCAL	Dra. Adriana Llorente Bousquets	
SECRETARIO	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Elisa Gutiérrez Hernández	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Jonathan Pablo Paredes Juárez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMOF/jmg

VNIVERSIDAD NACIONAL AVTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el trabajo de: **Tesis**

Efecto conservador de la aplicación de lactato de calcio y ultrasonido en carne de conejo envasada al vacío y refrigerada

Que presenta la pasante: **Mayra Lizet Contreras Cruz**

Con número de cuenta: **41609/1736** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de Abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en E. Fernando Flores Benitez	
VOCAL	Dra. Adriana Llorente Bousquets	
SECRETARIO	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Elisa Gutiérrez Hernández	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Jonathan Pablo Paredes Juárez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/jmg

Beatriz Guadalupe García Rosas

AGRADECIMIENTOS.

A **mis padres**, Isabel y Arturo. Gracias por toda la paciencia, los desvelos, las enseñanzas. Gracias por compartir su experiencia, las alegrías y las tristezas. Por ayudarme a ser la persona que soy el día de hoy y la persona y profesionista que seré de ahora en adelante.

A **mi segunda madre**, mi tía Laura. Gracias por acompañarme en todo este camino, por apoyarme en la locura y la cordura, cuando nadie más me comprende sé que te tengo a ti para siempre. Prometo cuidarte como lo has hecho conmigo.

A **mis abuelos**, Eugenio y Adelfa. Gracias por el amor, los regaños, las comidas, las risas y el apoyo. Abuelita, le mando un abrazo hasta el cielo. Abuelito, usted me ha enseñado toda la fortaleza que necesito en mi vida.

A **mis tíos**, Manuel, Cira, Reyna y Alejandro. Ustedes siempre han estado cuando los necesito, muchas tareas y trabajos han sido con su ayuda. Espero algún día poder pagarles algo de lo que me han brindado.

A **Lalo**, mi novio. Gracias por estar conmigo, por viajar horas para verme un par de minutos, por la paciencia en las noches de estudio y por prestarme tu hombro cuando mi mundo se derrumba. Deseo que sigamos creciendo juntos.

A la **Dra. Adriana Llorente**. Sin usted éste trabajo no habría sido posible. Gracias por creer en mí, gracias por enseñarnos tanto con su amor por la ciencia, gracias por mostrarnos el camino correcto para hacer las cosas. Me llevo más que conocimiento, una experiencia de vida.

Mayra. Amiga mía, gracias por tu apoyo, y por aceptar ser mi compañera de tesis. Por compartir tus conocimientos conmigo para que éste trabajo se llevara a cabo, fue una de las experiencias más estresantes y divertidas de toda mi vida. Jamás lo olvidaré.

A **mis amigos**. Lalo, Mariana, Esmeralda, Vero y Melissa. Ustedes hicieron el camino más divertido, ameno y sencillo. Aprendí mucho a su lado, y no cambiaría por nada cada momento que pasé con ustedes. Son grandes personas y serán excelentes profesionistas. Ojalá me permitan compartir sus éxitos.

A la **FESC**, a todos **mis maestros**, a la **UNAM**. Doy gracias a la vida por pertenecer a la máxima casa de estudios, y también agradezco al destino por llevarme a hasta la carrera de Ingeniería en alimentos, pues no podría haber elegido mejor.

Los docentes que allí me instruyeron, me aportaron conocimiento invaluable. Deseo poner en alto el nombre de la Universidad, mi facultad y mi carrera. Goya!

A todos los que mencioné, y a los que posiblemente me faltaron. LOS AMO! Y ésta tesis que con mucho esfuerzo construimos, es por y para cada uno de ustedes.

Mayra Lizet Contreras Cruz

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres **Rodrigo y Gabriela** quienes me han brindado su amor, apoyo y compañía durante toda mi vida, por creer en mi y con gran esfuerzo hemos logrado cumplir este sueño, los amo.

Mis tias **Estela, Hortencia** quienes me han brindado su apoyo a lo largo de la vida.

Amigos, **Esmeralda Galicia, Gabriela, Alain, Betty (amiga y compañera de tesis), Eduardo, Esmeralda Galván, Verito, Mely, Mariana, Iván**, ustedes fueron un pilar fundamental, compartimos experiencias inolvidables, gracias por permitirme estar en su vida, los quiero.

Dra. Adriana Llorente gracias por compartir su conocimiento, ayuda y atención a lo largo de este proyecto.

A la **UNAM** la máxima casa de estudios y a los profesores de la **FESC** quienes nos brindaron las herramientas necesarias para formarme profesionalmente como Ingeniero en Alimentos.

Esta tesis forma parte de los proyectos del Taller Multidisciplinario de Ingeniería en Alimentos: Procesos Tecnológicos de Productos Cárnicos, Plan de estudio 2004 de la carrera de Ingeniería en Alimentos.

Se desarrolló en el Laboratorio 7 de Bioconservación en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Agradezco al proyecto PIAPI 1840 "Procesos tecnológicos para la conservación y bioconservación de carne y productos cárnicos"

por el apoyo para la realización de este trabajo de tesis.

Índice

Resumen 20
Introducción 21
1. MARCO TEÓRICO 24
1.1 Carne 24
1.1.1 Definición 24
1.2 Estructura del músculo 24
1.2.1 Mecanismo de contracción muscular 27
1.3 Conejo 29
1.3.1 Raza 29
1.3.2 Clasificación de canales 31
1.3.3 Composición Química de la carne de conejo 31
1.4 Parámetros de calidad de la carne 34
1.4.1 pH 35
1.4.2 Capacidad de retención de agua 36
1.5 Factores que afectan la calidad de la carne 37
1.5.1 Ante-mortem 37
1.5.2 Transformación del músculo en carne 39
1.6 Efectos en la calidad de la carne 41
1.6.1 Carne pálida, suave y exudativa (PSE) 41
1.6.2 Carne oscura, firme y seca (DFD) 41
1.7 Microbiología de la carne 42
1.7.1 Microbiota de origen 43
1.7.2 Microorganismos alterantes 45
1.8 Teoría de barreras 46
1.8.1 Aplicación de bajas temperaturas 48
1.8.2 Envasado al vacío 51
1.9 Bioconservación 52
1.9.1 Sales de ácidos orgánicos 52
1.10 Tecnologías emergentes no térmicas 53
1.10.1 Ultrasonido 53

2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL 62
2.1 Materiales y métodos 62
2.2 Obtención de materia prima 62
2.3 Preparación de unidades experimentales 66
2.4 Tratamiento con lactato de calcio 67
2.5 Envasado al vacío 68
2.6 Ultrasonicación 69
2.7 Refrigeración 70
2.8 Evaluación de la calidad microbiológica 70
2.8.1 Preparación de solución salina fisiológica 71
2.8.2 Preparación de medio de cultivo: Agar cuenta estándar 71
2.8.3 Preparación de medio de cultivo: Rojo violeta bilis 71
2.8.4 Esterilización del material 72
2.8.5 Preparación de la dilución primaria 72
2.8.6 Diluciones decimales 73
2.8.7 Siembra en superficie 73
2.8.8 Conteo de microorganismos 74
2.8.9 Tinción de Gram 75
2.9 Evaluación del pH de la carne 75
2.10 Determinación de CRA 76
2.11 Diseño experimental 77
3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS 79
3.1 Resultados de microbiología 80
3.1.1 Resultados de tinción de gram 86
3.2 Resultados de pH 92
3.3 Resultados de CRA 99
4. Conclusiones 105
5. Recomendaciones 107
6. Referencias citadas 108

Índice de Figuras

Figura 1. Estructura del músculo 25
Figura 2. Organización del músculo estriado 26
Figura 3. Mecanismo de contracción muscular 28
Figura 4. Conejo Nueva Zelanda 30
Figura 5. Conejo California 30
Figura 6. Conejo Rex 30
Figura 7. Conejo chinchilla 30
Figura 8. El efecto del pH muscular sobre el agua inmovilizada en la carne 37
Figura 9. Influencia de la tasa y el grado de disminución del pH post-mortem en las características de calidad de la carne 42
Figura 10. Efecto barrera 48
Figura 11. Formación y colapso de burbujas en estado estacionario 55
Figura 12. Pasos durante la cavitación de burbujas 55
Figura 13. Fenomenología de la cavitación ultrasónica 56
Figura 14. Diagrama de proceso para la aplicación de métodos en tren posterior del conejo 63
Figura 15. Conejo raza Chinchilla de 73±2 días 63
Figura 16. Insensibilización del conejo 64
Figura 17. Desangrado del conejo 64
Figura 18. Faenado: corte de extremidades y desollado 65
Figura 19. Eviscerado 65
Figura 20. Lavado de la canal 66
Figura 21. Aspersión de lactato de calcio sobre miembro posterior de conejo 68
Figura 22. Esterilización por membrada de la solución de lactato de calcio 68
Figura 23. Envasadora al vacío marca MULTIVAC modelo A300 69
Figura 24. Baño ultrasonidomodelo 08891 69
Figura 25. Refrigeración de muestras envasadas al vacío 70
Figura 26. a) Servido de cajas Petri, b) Prueba de esterilidad de cajas Petri 72
Figura 27. Preparación de la dilución primaria 73
Figura 28. Diluciones seriadas decimales 73
Figura 29. Siembra en superficie en campana de flujo laminar 74
Figura 31. Coliformes totales 74
Figura 30. Mesófilas aerobias 74
Figura 32. Potenciómetro Orion Five Star 75
Figura 33. Centrífuga Centurion Scientific Ltd K2015R 76
Figura 34. Gráfico de tendencia de las log UFC/g de coliformes totales de materia prima y lotes 80
Figura 35. Gráfico de log UFC/g de mesófilos aerobiosen materia prima y lotes 82
Figura 36. Tinción de Gram en microorganismos obtenidos de la materia prima 87
Figura 37. Tinción de Gram en microorganismos obtenidos del Lote 1 (Control) tras 14 días de almacenamiento 88
Figura 38. Tinción de Gram en microorganismos obtenidos del Lote 2 89
Figura 39. Tinción de Gram en microorganismos obtenidos del lote 3 90
Figura 40. Tinción de Gram en microorganismos obtenidos del lote 4 al día 14 91

Figura 41. Tinción de Gram en microorganismos obtenidos del Lote 4 al día 14 92
Figura 45. Gráfico de pH 95
Figura 46. Gráfico de cajas de pH 97
Figura 47. Gráfico de interacción de pH 98
Figura 48. Gráfico de tendencia para CRA 100
Figura 49. Gráfico de cajas de los resultados de CRA 102
Figura 50. Gráfica de interacción de CRA 103

Índice de cuadros

Cuadro 1. Razas de conejo 30
Cuadro 2. Categorías de las canales de conejo 31
Cuadro 3. Composición química y valores de energía del conejo (en 100g de fracción comestible)31
Cuadro 4. Lotes a evaluar 67
Cuadro 5. Simbología de lotes 79
Cuadro 6. Resultados obtenidos durante la experimentación de pH en emulsión, CRA, Mesofilos aerobios y coliformes totales 79
Cuadro 7 Resultados de log UFC/g de coliformes totales contabilizadas a las 24h 80
Cuadro 8. Resultados de log UFC/g mesófilos aerobios contabilizadas a las 48h 82
Cuadro 9. Análisis de varianza para coliformes totales 84
Cuadro 10. Resultados de la prueba de Tukey para el conteo de m.o. coliformes totales con respecto a los días de almacenamiento 84
Cuadro 11. Resultados de la prueba de Tukey para el conteo de m.o. coliformes totales con respecto a los lotes y tratamientos 84
Cuadro 12. Análisis de varianza para mesófilos aerobios 85
Cuadro 13. Prueba de Tukey del conteo de m.o. mesófilos aerobios con respecto a los días de almacenamiento 85
Cuadro 14. Prueba de Tukey del conteo de m.o. mesófilos aerobios con respecto a los lotes y tratamientos aplicados 86
Cuadro 15. Datos estadísticos de las muestras de pH con electrodo de inmersión 93
Cuadro 16. Datos estadísticos del promedio de las repeticiones de pH con electrodo de inmersión 94
Cuadro 17. Promedio de repeticiones de pH 95
Cuadro 18. Análisis de varianza de pH 96
Cuadro 19. Resultados de la prueba de Tukey para pH con respecto a los días de almacenamiento 98
Cuadro 20. Resultados de la prueba de Tukey para pH con respecto a los lotes o tratamientos aplicados 99
Cuadro 21. Datos estadísticos de CRA 99
Cuadro 22. Promedio de las muestras de CRA 100
Cuadro 23. Promedio de las muestras de CRA 101
Cuadro 24. Resultados de la prueba de Tukey para CRA con respecto a los días de almacenamiento 103

Cuadro 25. Resultados de la prueba de Tukey para CRA con respecto a los lotes y tratamientos aplicados..... 104

Abreviaturas

ADP- Adenosin trifosfato

ATP- Trifosfato de Adenosina

a_w- Actividad de agua

CE- Capacidad emulsificante

CRA-Capacidad de retención de agua

DFD- Oscura, firme y seca del inglés *dark, firm and dry*

EV- Envasado al vacío

FDA-Administración de Alimentos y Medicamentos del inglés Food and Drug Administration.

FMI- Grasa intramuscular

IMCT-Tejido conectivo intramuscular

LaC- Lactato de calcio

pH- Potencial de Hidrógeno

PSE-Pálida, suave y exudativa del inglés *pale, soft and exudative*

R-Refrigeración 4

US- Ultrasonicación de alta intensidad

Resumen

El deterioro de los alimentos es causado principalmente por la presencia y el desarrollo de microorganismos. La estabilidad y seguridad de los alimentos se basa en la aplicación combinada de varios factores denominados obstáculos o barreras, que controlan los procesos de deterioro, esto implica modificar condiciones como la temperatura, actividad de agua, pH, potencial redox entre otros. En esta investigación se buscó evaluar el efecto de la aplicación dela combinación de métodos:, envasado al vacío **[P=850±5mbar],** adición de lactato de calcio **[3%]** y ultrasonicación de alta intensidad **[47kHz, t=10min]** y refrigeración a **4°C**, sobre la conservación de carne de conejo y el aumento de su vida útil. Se evaluó cada método solo y combinado, a los días 2, 7 y 14 de almacenamiento, mediante la determinación de pH, utilizando un potenciómetro digital Orion Five Star, la capacidad de retención de agua (CRA) empleando una centrífuga Centurion Scientific Ltd modelo K2015R, y calidad microbiológica, de acuerdo con la metodología señalada en las normas para la cuenta de baterías aerobias (**NOM-110-SSA1-1994, NOM-092-SSA1-1994)** y para la cuenta de microorganismos coliformes (**NOM-113-SSA1-1994),** así mismo se realizó la observación de morfología colonial en las placas de agar y tras la tinción de Gram, la observación de las muestras al microscopio óptico, para determinar que bacterias predominan, gram positivas o gram negativas, durante el almacenamiento. Se trabajó bajo un diseño completamente al azar, obteniéndose 4 lotes diferentes, **Lote (Control) 1**: Envasado al vacío y refrigerado a 4°C, **Lote 2**: Adición de lactato de calcio, envasado al vacío y refrigerado a 4°C, **Lote 3**: Envasado al vacío, ultrasonicación y refrigerado a 4°C, **Lote 4**: Adición de lactato de calcio,envasado al vacío, ultrasonicación de alta intensidad y refrigeración a 4°C, la determinación de las variables de respuesta se realizó por triplicado.
Los resultados sobresalientes indican que para el pH se encontraron diferencias altamente significativas ($P<0.01$) entre los diferentes lotes y días de almacenamiento, comprobando con la prueba de Tukey que el efecto principal en cuanto ella, aumento de pH fue observado en los tratamientos con lactato de calcio ya que los lotes 2 y 4 (con valores de 6.1578 y 6.2197 respectivamente a los 14 días de almacenamiento) no presentaron diferencias significativas entre sí y a su vez, presentaron los pH más altos en comparación con el control, materia prima y el lote 3, que únicamente fue ultrasonicado. De igual forma para la capacidad de retención de agua (CRA), se encontraron diferencias altamente significativas ($P<0.01$) entre los diferentes lotes y días de almacenamiento, comprobando con la prueba de Tukey que el efecto principal en la CRA fue el tratamiento de Ultrasonicación ya que los lotes 3 y 4 no presentaron diferencias significativas entre sí, además de que presentaron en promedio un aumento del 22% y 25% respectivamente al compararlos con la materia prima.
En los resultados microbiológicos no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$), en términos de las cuentas de bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales entre los 4 lotes analizados a los diferentes días de almacenamiento. Sin embargo, se puede concluir que el lactato de calcio tiene un efecto bioconservador importante al aplicarse solo y en combinación, ya que fue capaz de controlar ambos tipos de microoganismos, ya que cabe resaltar que en la materia prima cárnica se identificó la presencia de microorganismos Gram negativos, y posterior a la aplicación de la combinación de los tratamientos, adición de lactato de calcio,envasado al vacío, ultrasonido de alta intensidad, y refrigeración, estos fueron ausentes, además se logró reducir con respecto al lote control la cuenta de bacterias mesófilas aerobias en 2 log UFC/g tras 14 días de almacenamiento.

Introducción

La calidad nutrimental de la carne de conejo ciertamente se adapta bien a los requisitos de salud del consumidor moderno. Este aspecto representa un hito para promover su consumo. La carne de conejo es rica en proteínas con altos niveles de aminoácidos esenciales y baja en grasas con una proporción favorable entre ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados. Proporciona una cantidad moderada de energía (un promedio de 751 kJ/100g de carne). También tiene un contenido bajo de colesterol (47mg/100g) y sodio (42mg/100g). Además, es una buena fuente de potasio (430mg/100g), fósforo (228mg/100g), selenio (12µg/100g) y vitamina B_{12} (Dalle Zotte &Szendro, 2011).

La carne en general se considera como un alimento altamente perecedero por su alto contenido de nutrientes y elevada actividad de agua, por lo que se han desarrollado métodos de conservación, o barreras.

El concepto del efecto barrera fue introducido por Leistner y Rödel entre 1976 y 1978. Las barreras son condiciones o aditivos aplicados al alimento, como altas temperaturas, secado, cambios de pH mediante la adición de ácidos orgánicos, presencia de oxígeno o no para modificar el potencial óxido-reducción y los conservadores sintéticos como tal (Leistner, L., 1988).

La reducción de la temperatura del producto, a través de la refrigeración, tiene un impacto importante en las tasas de crecimiento microbiano, acción enzimática, caída del pH y envejecimiento.

Para modificar por ejemplo el potencial óxido reducción se puede aplicar el envasado. Un envase sirve como material de protección que rodea carne y productos cárnicos, previene las contaminaciones biológicas, químicas y físicas, además de cambios sensoriales. Existen el envase al vacío, envase activo y el envase con atmósfera modificada.

El envasado al vacío se ha utilizado principalmente para cortes primarios de carnes rojas, cocidas, embutidos y pescados. Principalmente inhibe el crecimiento de bacterias aerobias. Desde una perspectiva sensorial provoca cambios de color y una mayor dureza por la presencia de la desoximioglobina (Chen, J.H., et. al., 2012).

Por otro lado, tenemos el uso de conservadores naturales, los de mayor potencial en la industria cárnica son las bacteriocinas, los lactatos y los extractos de semilla de toronja. Las sales derivadas del ácido láctico están naturalmente presentes en la carne y su uso es permitido como conservador

por el USDA-Food Safety and Inspection Service (USDA-FSIS) en la cantidad límite de 3g/100g de carne (Gómez C.,L., et. al., 2013).

Las sales de ácidos orgánicos como el lactato de calcio han sido utilizadas en la industria de la carne por su habilidad para resaltar el sabor, prologar la vida de anaquel, y mejorar la seguridad microbiológica de los productos. La Carne y productos cárnicos son considerados como una fuente menor de calcio (Fennema, 2000) por lo que la adición de una solución de lactato de calcio es útil para enriquecer los productos con este mineral, el lactato de calcio ayuda a mantener la terneza y palatabilidad de los productos cárnicos (Raham S., M. E., et al., 2013).

La aplicación de ultrasonido [HIU] en la carne ayuda a ablandar, acelera la maduración y la transferencia de masa, reduce la energía de cocción, aumenta la vida útil, mejora las propiedades funcionales de los productos emulsionados. El efecto de HIU sobre las bacterias depende de numerosos factores, los más importantes son; tipo de microorganismo, frecuencia, intensidad y duración de la aplicación de ondas de ultrasonido, y las características del material o alimento. La teoría principal sobre cómo la ecografía de alta intensidad altera la viabilidad de los microorganismos se relaciona con el fenómeno de la cavitación, produciendo un daño celular (Piñon et al., 2018).

CAPÍTULO 1

“MARCO TEÓRICO”

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Carne

1.1.1 Definición

De acuerdo con la **NOM-194-SSA1-2004**, la carne se define como la estructura muscular estriada esquelética, acompañada o no de tejido conectivo, hueso y grasa, además de fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos, proveniente de los animales de abasto, que no ha sido sometido a ningún proceso que modifique de modo irreversible sus características sensoriales y fisicoquímicas, se incluyen las refrigeradas o congeladas.

1.2 Estructura del músculo

Hay tres tipos de tejido muscular: músculo cardíaco, músculo liso y músculo estriado o esquelético (Purslow, 2017). El músculo esquelético es una estructura fibrosa jerárquica, es decir, cada nivel de estructura está compuesto por varias subunidades fibrosas. El mayor nivel de estructura es un músculo completo, cuya superficie externa está definida por una capa de tejido conectivo, el *epimisio*. Internamente, cada músculo se divide en fascículos, o haces de fibras musculares, que están separados por otra capa de tejido conectivo, el *perimisio*. Los fascículos más grandes (primarios) pueden consistir en varios fascículos más pequeños (secundarios), separados por capas más delgadas de perimisio. Los fascículos están formados por numerosas fibras musculares individuales, típicamente de 20 a 80 mm de diámetro dependiendo de la especie. Las fibras musculares individuales son células multinucleadas, cada una con su propia membrana basal que recubre la membrana plasmática celular que consiste en una bicapa de fosfolípidos (Purslow, 2017), la representación esquemática del músculo esquelético se presenta en la figura 1.

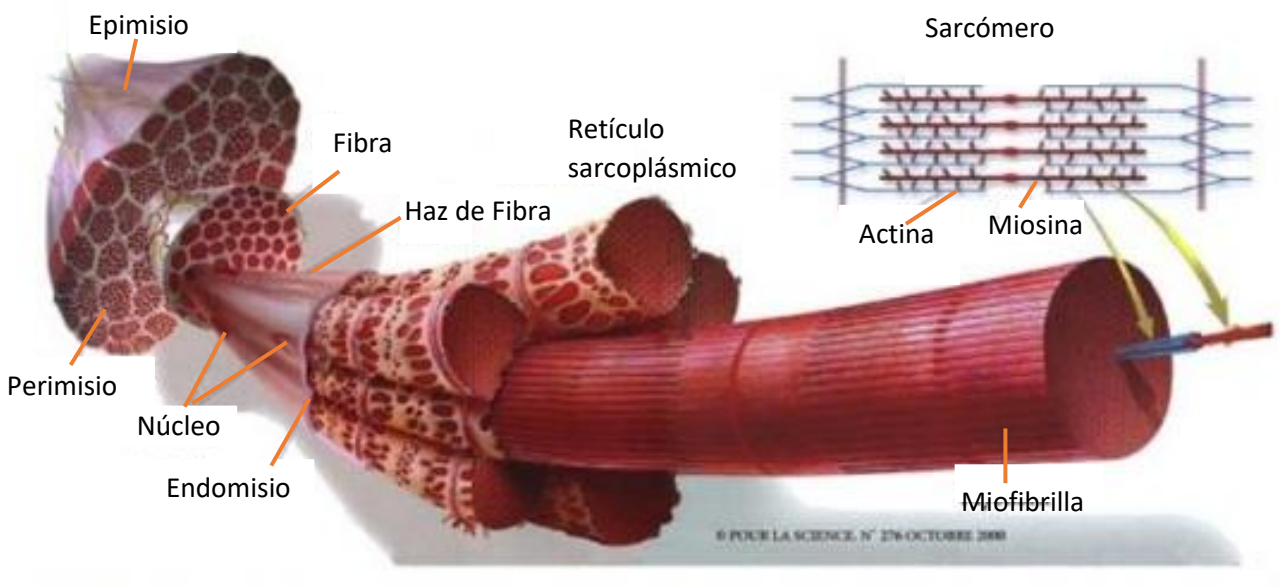

Figura 1. Estructura del músculo

Fuente: Listrat, A. et al., 2016

La Figura 2 representa esquemáticamente la organización del músculo estriado. Se compone de unidades que se repiten longitudinalmente denominadas sarcómero, éste es la unidad contráctil más pequeña de la célula y se encuentra separado uno de otro por una estructura denominada línea Z. En el microscopio óptico, las miofibrillas (y las fibras musculares) tienen una apariencia de bandas o estriadas debido a las diferentes propiedades ópticas de la banda I (isotrópica en luz polarizada) y la banda A (anisotrópica en luz polarizada).

Dos conjuntos de miofilamentos están dispuestos longitudinalmente en el sarcómero: los filamentos delgados, compuestos principalmente de actina junto con las proteínas reguladoras tropomiosina y troponinas, y los filamentos gruesos, compuestos principalmente de miosina. Estos filamentos se interdigitan en una porción de su longitud y una sección transversal del sarcómero donde se superponen revela un empaque hexagonal de filamentos gruesos, con filamentos de actina delgados que se encuentran equidistantes de cada filamento grueso en su propia matriz hexagonal. La banda A es la longitud de los filamentos gruesos y mantiene una longitud constante en el músculo en funcionamiento. La banda I es la distancia entre el punto de solapamiento de los filamentos delgados en la

mitad del sarcómero, a través del disco Z y hasta el punto de solapamiento del filamento delgado en la siguiente mitad del sarcómero. La longitud de la banda I varía con la contracción y relajación muscular. La zona H es la región ligeramente menos densa de la banda A donde los filamentos delgados no se superponen con los filamentos gruesos, y nuevamente la longitud de esta zona varía con la longitud del sarcómero a medida que el músculo se alarga o contrae. En el medio de la banda

A hay una estructura que corre transversalmente a través del sarcómero, la línea M, que estabilizó los gruesos filamentos (Purslow, 2017).

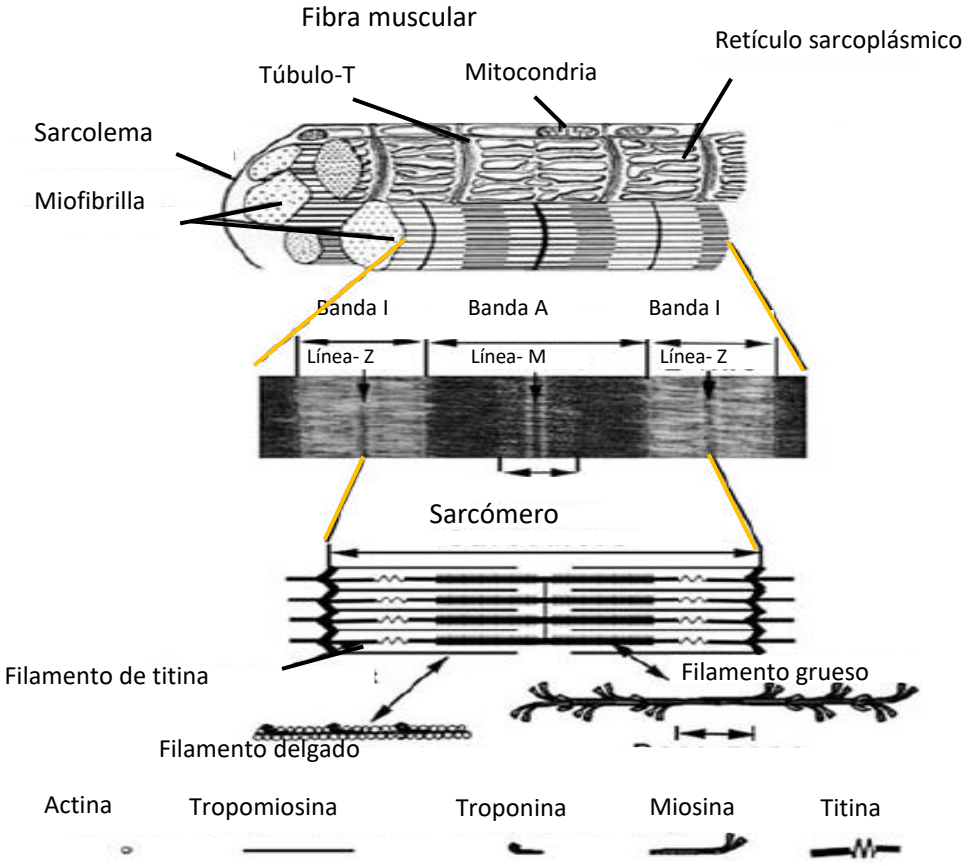

Figura 2. Organización del músculo estriado

Fuente: Guo, W., & Greaser, M. L. 2017

1.2.1 Mecanismo de contracción muscular

La función del músculo es desarrollar o generar tensión. Este proceso de "generación de tensión" es llamado contracción. La función principal de la contracción muscular es producir movimiento, el mecanismo mediante el cual los músculos se contraen, relajan o estiran se muestra en la Figura 3, y a continuación se describe el mecanismo (Palmer & Epler, 2002).

(1) La unión de ATP **(Trifosfato de adenosina)** a la cabeza de miosina libera su unión a la actina.

(2) El ATP se hidroliza a ADP (Adenosin difosfato) y la cabeza gira hacia la izquierda. En el músculo relajado, esta es la posición; la cabeza está ladeada, cargada con ADP y la interacción con actina está bloqueada por el complejo tropomiosina y troponina. El calcio liberado por el retículo sarcoplásmico como resultado de la activación muscular se une al complejo de troponina, moviendo la tropomiosina y permitiendo que la cabeza de miosina se una a la actina.

(3) La unión de la cabeza de miosina libera el fosfato inorgánico (Pi), causando un cambio en la conformación de la cabeza (en este diagrama gira hacia la derecha). Este es el golpe de poder, llenando el filamento grueso a lo largo del filamento delgado en aproximadamente 10 nm.

(4) Se libera el nucleótido ADP. En presencia de más ATP, la cabeza de miosina puede unirse a más ATP, causando su liberación de la actina y comenzando el ciclo nuevamente.

La contracción termina cuando el secuestro de calcio vuelve al retículo sarcoplásmico, lo que hace que el complejo troponina-tropomiosina bloquee estéricamente la miosina para que no se una a la actina. En el músculo *post mortem*, bajos niveles de ATP y altos de calcio debido a la falla de las bombas de calcio dependientes de ATP significa que los puentes cruzados formados entre las cabezas de miosina y la actina están atrapados en el estado que se muestra en la parte superior del diagrama (Lodish, H, et al, 2000).

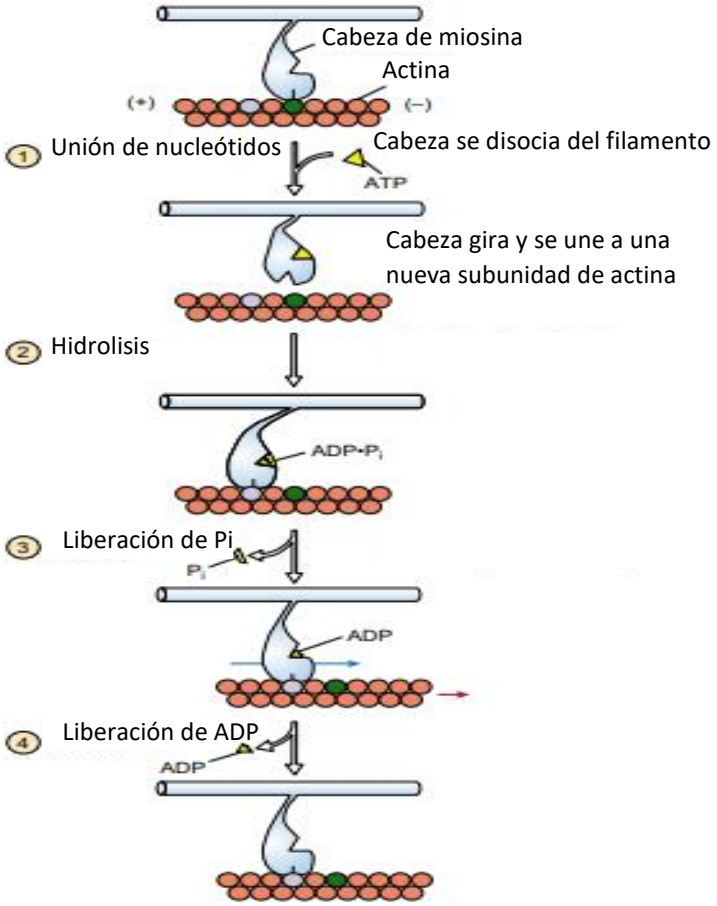

Figura 3. Mecanismo de contracción muscular

Fuente: Lodish, H, et al, 2000

1.3 Conejo

1.3.1 Raza

Existen muchas razas y variedades de conejos que han sido desarrolladas con diferentes fines. Su clasificación depende de varios criterios: por el principal producto obtenido (carne, piel, pelo), por el color de la capa, por su tamaño corporal, por el origen geográfico, etc. Si bien es cierto que la raza ideal es aquella que satisface cabalmente las demandas del mercado, también es cierto que algunas razas poseen muchas ventajas sobre otras. En muchos países, incluido México, se ha considerado de manera oficial (como parte de una política gubernamental) que la raza de conejos más apropiada para reproducirse dentro del territorio nacional es la Nueva Zelanda, variedad Blanca. Sin embargo, el éxito en la Cunicultura no radica solo en tener una excelente raza, también deben tomarse en cuenta y aplicarse los aspectos zootécnicos básicos, tales como: genética, reproducción, administración, nutrición, manejo, sanidad y economía (Jandete, Martinez, & Galvez, 2018).

Cuadro 1. Razas de conejo

Raza	Imagen	Generalidades
Nueva Zelanda	*Figura 4. Conejo Nueva Zelanda*	**Origen**: Estados Unidos. **Características**: pelaje liso color blanco, rojo y negro. **Clasificación:** doble propósito: produce carne de buena calidad y la piel tiene un alto valor industrial. **Peso corporal adulto**: 4 - 4.5 kg
California	*Figura 5. Conejo California*	**Origen**: Estados Unidos **Características:** su pelaje es de color blanco con manchas en el hocico, orejas, patas y cola de color negro o habano. **Clasificación**: raza de doble propósito **Peso corporal adulto**: 4.3 kg
Rex	*Figura 6. Conejo Rex*	**Origen**: Francia **Características:** pelaje es muy corto (no mayor de 13 mm.), carece de cerdas o pelos de Jarré y se inserta en sentido perpendicular a la dermis. Esta piel es de las más demandadas. Presenta varios colores, aunque también existen las variedades blanca y negra **Clasificación**: doble propósito, sin embargo, es más utilizada para producción de piel. **Peso corporal adulto**: 3.2 kg
Chinchilla	*Figura 7. Conejo chinchilla*	**Origen**: Francia **Características:** Su pelo es rígido y fino, de color gris azulado en su base y una combinación en blanco y negro en las puntas **Clasificación**: doble propósito, sin embargo, es más utilizada para producción de piel.

Fuente**:** Jandete, Martinez, & Galvez, 2018.

1.3.2 Clasificación de canales

Según la **NMX-FF-105-SCFI-2005**, el conejo para abasto se clasifica en categorías, como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2. Categorías de las canales de conejo

CATEGORÍA	Peso en canal [kg]	Edad [días]
México extra	1 a 1.5	Hasta 77
México 1	0.9 a 1.8	Hasta 100
México 2	<0.9 0 >1.8	Cualquier edad

Fuente: NMX-FF-105-SCFI-2005

1.3.3 Composición Química de la carne de conejo

La composición de la carne de conejo se muestra en el cuadro 3.

Cuadro 3. Composición química y valores de energía del conejo (en 100g de fracción comestible)

Composición química de carne de conejo	
Agua	69.6
Proteína	20.8
Grasa	7.62
Minerales	1.1
kcal/100g	164

Fuente: Souci, Fachman & Kraut, 1986

1.3.3.1 Proteínas musculares

Se pueden dividir ampliamente en aquellas que son solubles en agua o soluciones salinas diluidas (las proteínas sarcoplásmicas), aquellas que son solubles en soluciones salinas

concentradas (las proteínas miofibrilares), y aquellas que son insolubles en el último, al menos a baja temperatura (las proteínas del tejido conectivo y otras estructuras formadas), (Purslow, P.P., 2017).

Proteínas miofibrilares

Las proteínas miofibrilares son proteínas largas de fibrillas organizadas en secciones repetidas (sarcómeros), para contraerse deslizando los filamentos gruesos (miosina), y delgados (actina), uno a lo largo del otro. La proteína miofibrilar más abundante es la miosina. La molécula de miosina tiene un peso molecular cercano a 500,000 daltones y una relación de longitud a diámetro de aproximadamente 100:1. Debido a su alto contenido de ácidos glutámico y aspártico, y de aminoácidos dibásicos, tiene una gran carga negativa y tiene cierta afinidad por los iones de calcio y magnesio. La miosina es una molécula asimétrica compuesta de dos cadenas de polipéptidos pesados y cuatro cadenas de polipéptidos ligeros. La meromiosina pesada y la meromiosina ligera son fragmentos proteolíticos de miosina, existen otras proteínas miofibrilares en menor proporción como son troponina, tropomiosina (López. C, 2017).

Proteínas sarcoplásmicas

Corresponden al 30-35% del total de las proteínas, se encuentran en el citoplasma de la fibra muscular. Están constituidas en su mayoría por los sistemas enzimáticos del metabolismo celular. Estos polipéptidos también se conocen con el nombre genérico de miógeno son fundamentalmente globulinas y albúminas pertenecientes a los sistemas que intervienen en el metabolismo celular. De importancia en este grupo es el pigmento respiratorio llamado mioglobina responsable del color de la carne (Badui, 2006).

Tejido conectivo

El tejido conectivo intramuscular (IMCT), es una red compleja de proteínas extracelulares como es el colágeno y la elastina que mantiene la estructura muscular y transporta las fuerzas de contracción hacia los tendones y los huesos. Además de su papel estructural, el IMCT es importante en la regulación del crecimiento de las células musculares mediante la señalización celular directa y mediante la modulación de los factores de crecimiento (Nishimura, 2015) El IMCT se desarrolla sincrónicamente con las fibras musculares y se

adapta a través del crecimiento y la deposición de grasa intramuscular (FMI) (Purslow, P.P., 2017) .

1.3.3.2 Agua

Los músculos y la carne vivos contienen una alta proporción de agua. Como el agua es una molécula dipolar, puede producirse una estrecha interacción con las proteínas y otras moléculas cargadas. Por lo tanto, el agua puede clasificarse como agua ligada y no ligada, que a su vez puede inmovilizarse en estructuras celulares o liberarse (López. C, 2017).

Dado que las proteínas forman aproximadamente un quinto del peso húmedo de la carne, y la unión del agua a ellas es equivalente a aproximadamente la mitad del peso de las proteínas, el agua unida a las proteínas es aproximadamente el 13% de la cantidad total de agua en la carne. El agua unida está fuertemente unida a las proteínas y no se mueve fácilmente entre compartimentos, incluso aplicando calor de liofilización. La desnaturalización de proteínas afecta la exposición externa de grupos cargados y conduce notablemente a una pérdida en su capacidad para retener el agua. Tanto los componentes miofibrilares como los sarcoplásmicos se desnaturalizan en diferentes grados después de la muerte, dependiendo principalmente de combinación de disminución del pH, temperatura y deterioro oxidativo, perdiendo así parte de su capacidad para retener el agua (Honikel et al., 1983; Lopez-Bote et al., 1989). Por otro lado, la degradación proteolítica de la carne a lo largo del envejecimiento aumenta el número de grupos cargados y la capacidad de retener agua. La mayor parte del agua (hasta el 85%) está contenida dentro de la red miofibrilar densa en proteínas (miofibrilares), que generalmente se conoce como agua atrapada o inmovilizada. Esta agua se encuentra entre los filamentos finos y gruesos, y es retenida por las fuerzas de capilaridad. La capacidad de retener agua entre las miofibrillas se ve afectada por el pH final de la carne (pHu). El espacio entre las miofibrillas es mínimo a un pH cercano al punto isoeléctrico de las proteínas (5.5), y se produce un marcado aumento en la retención de agua a un pH más alto. El agua restante se encuentra en los núcleos, orgánulos, sarcoplasma, entre las fibras musculares (en el espacio interfascicular), y entre los fascículos musculares (extrafasciculares). Esta agua generalmente se conoce como agua libre y puede perderse fácilmente (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005).

1.3.3.3 Carbohidratos

La cantidad de carbohidratos en la carne es muy baja (0.2%-0.4% en peso). Sin embargo, el músculo in vivo almacena glucógeno a 60-150 mmol de glucosa / kg de concentración de peso húmedo (equivalente a 1%-2.7%), como una fuente de energía altamente disponible fácilmente disponible en situaciones exigentes, como el estrés, el ejercicio o el ayuno. El glucógeno es un polímero de glucosa de cadena ramificada, análogo del almidón en las plantas. Tiene una estructura similar, pero está más ampliamente ramificada, lo que permite una mayor hidratación (aproximadamente 3-4 partes de agua por parte de glucosa), y disponibilidad metabólica. La síntesis de glucógeno es iniciada por una proteína, glucogenina, cuya molécula se combina auto catalíticamente con ocho moléculas de glucosa para formar una proteína glucosil y constituye un cebador para la síntesis de glucógeno. Se ha propuesto que el factor principal que limita el almacenamiento de glucógeno en el músculo puede ser la disponibilidad de glucogenina (Alonso et al., 1995).

1.3.3.4 Grasa

La carne es fuente importante de grasa, la cual viene de tres depósitos: grasa intramuscular en la forma de fosfolípidos, grasa subcutánea y grasa intermuscular .Esta última relacionada con cantidades importantes de ácidos grasos, de los cuales existen dos tipos: los ácidos saturados y los insaturados, los que a su vez se clasifican como monoinsaturados y poliinsaturados. Y estos últimos se subdividen en ácidos omega 3 y omega 6, que no son sintetizados por el organismo humano y que han sido asociados con prevención de enfermedades (Scollan, 2006).

1.4 Parámetros de calidad de la carne

El término calidad se refiere a la constitución o propiedades que un producto posee, de dichas características dependerá su aceptación por parte del consumidor. Las características naturales más importantes de la carne fresca que determinan la calidad son las propiedades fisicoquímicas (potencial de hidrogeno (pH), actividad de agua (**a_w**), tecnológicas (capacidad de retención de agua (CRA), capacidad emulsificante (CE)), y físicas (color, textura), organolépticas (suavidad, consistencia, olor, sabor, etc.), y microbiológicas. Estas propiedades son influidas por factores independientes e interdependientes como sistema de

producción, alimentación, grupo, raza genética, transporte, estado de salud, manejo del animal antes y después de la matanza, manejo de la carne y procedimientos de conservación (López. C, 2017).

1.4.1 pH

Es la característica de calidad de la carne más importante ya que afecta directamente la estabilidad y propiedades de las proteínas y de su valor final, dependerán prácticamente todos los atributos importantes de calidad de la carne, como son: capacidad de retención de agua, textura y color. la evolución del pH de la carne de conejo se inicia a partir del pH del músculo. Sin embargo, después del sacrificio el músculo pierde el aporte de oxígeno y nutrientes, por lo que trata de mantener su integridad disipando sus propias reservas energéticas y sufriendo cambios en sus propiedades durante la etapa *post-mortem* , las cuales dependen de las condiciones *ante-mortem* como (transporte, estrés, ayuno, método de aturdimiento, disponibilidad de glucógeno y producción de ácido láctico) y del glucógeno disponible (Alvarado, 2002).

En lo concerniente a la relación existente entre el pH y la calidad de la carne, (Warriss, 1995), afirma que uno de los cambios más importantes en la conversión de músculo a carne es su acidificación, en este proceso el pH normalmente baja de 7.2 a 5.5 en las 24 horas posteriores a la matanza, además afirma que las propiedades estructurales de la carne dependen del pH. Según (Alvarado, 2002), las tasas de declinación del pH causan dos defectos de calidad que son la carne DFD (Oscura, firme y seca del inglés *dark, firm and dry*), y la carne PSE (carne pálida, suave y exudativa del inglés *pale, soft and exudative*), La carne DFD se desarrolla cuando el glucógeno muscular disminuye antes del sacrificio resultando en un pH muscular alto proveniente de una glucólisis *post-mortem* (después de la muerte) reducida. Esta carne se caracteriza por tener una alta capacidad de retención de agua, aunque su apariencia sea seca (Alvarado, 2002).

1.4.2 Capacidad de retención de agua

Es una propiedad que se refiere a la capacidad que tienen las proteínas de la carne en retener agua, propiedad que se ve influenciada por varios factores ambientales como: (pH, fuerza iónica, tipos de sales, temperatura) y por la conformación proteica (Fennema,2000), cuando se somete a factores externos como: corte, presión y temperatura, entre otros. la carne sufre perdidas de humedad debido principalmente al agua libre de su estructura. La CRA, es una propiedad de gran importancia en la calidad de la carne, ya que sufre cambios antes, durante y después de la cocción (López. C, 2017).

Debido a su naturaleza dipolar, el agua es atraída a grupos con carga eléctrica. El agua unida está estrechamente asociada con los componentes cargados, como los grupos reactivos en las proteínas miofibrilares, y no se elimina fácilmente por la fuerza física. Inmovilizado o atrapado el agua es atraída a la capa de agua unida y es la más afectada por los cambios físicos y bioquímicos *post-mortem*. Por último, el agua libre es retenida libremente en la carne por fuerzas capilares débiles, y su flujo desde el tejido no se ve obstaculizado. El agua libre no se observa fácilmente en la carne pre-rigor, pero puede resultar de condiciones que permiten el movimiento del agua inmovilizada. Los cambios estructurales en las miofibrillas influyen en el movimiento y la fijación del agua durante la conversión del músculo en carne. A pH fisiológico, hay una carga negativa total neta de proteínas; después del sacrificio, el pH muscular disminuye, y se acerca al pI (carga neta ¼ cero) La atracción entre las cargas positivas y negativas reduce la cantidad de sitios disponibles para la unión del agua por la proteína Figura 8 (López. C, 2017).

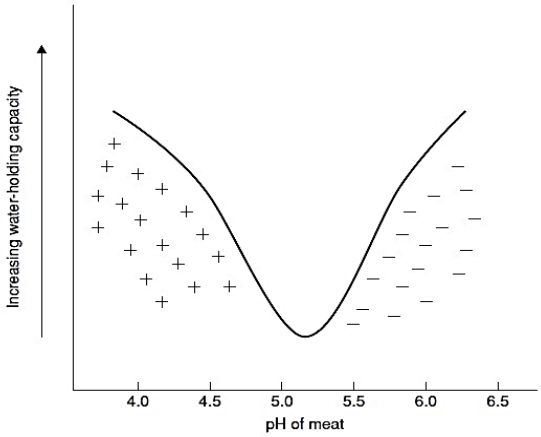

Figura 8. El efecto del pH muscular sobre el agua inmovilizada en la carne

Fuente: Wismer Pedersen, 1971

1.5 Factores que afectan la calidad de la carne

Las características principales que determinan la calidad son las propiedades fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas. Estas características están influenciadas por factores como la alimentación, estrés, transporte, y factores *post-mortem* transformación de musculo en carne el efecto que tiene cada etapa del manejo *ante-mortem* y *post-mortem* se ve reflejado en la calidad de la carne obtenida (pH, conductividad, color, capacidad de retención de agua y vida de anaquel), (Hernández, Aquino, & Ríos, 2013).

1.5.1 Ante-mortem

1.5.1.1 Alimentación

La dieta y la estrategia de alimentación afectan en gran medida la composición de la carne y las propiedades metabólicas del músculo, lo que afecta la calidad de la carne de muchas maneras.

Diversos estudios se han enfocado en la modificación de la dieta del animal, cambiando la composición de carbohidratos, con la finalidad de optimizar la caída del pH posterior al sacrificio, mejorando la calidad de la carne. La suplementación de dietas o agua potable con azúcar u otro carbohidrato digerible aumenta las reservas de glucógeno y reduce el pH. Por otro lado, las dietas con carbohidratos de baja digestibilidad (alta en grasas y proteínas) se

han utilizado para reducir las reservas de glucógeno con el objetivo de modular la caída del pH (Rosenvold et al., 2001). En este caso, se obtuvo un pH similar, pero se aumentó la capacidad de retención de agua. La creatina aumenta la disponibilidad de fosfocreatina para la producción de ATP, ahorrando glucógeno, lo que puede reducir la disminución del pH durante los primeros pasos *post-mortem* y mejorar la (CRA), (Young et al., 2005). Incluyendo el cromo, un regulador del metabolismo de la glucosa, en las dietas de cerdos a muy baja concentración (200 ppb), produjo un pH más alto y retención de agua (Matthews et al., 2005).

1.5.1.2 Estrés

Uno de los elementos más importantes de la respuesta de un animal a estímulos externos es la susceptibilidad al estrés. Cuando un animal percibe que un estímulo ambiental es antagónico al mantenimiento de la homeostasis, se alteran varios elementos bioquímicos. El metabolismo se altera drásticamente en respuesta al estrés, a través de una disposición compleja de regulación hormonal. Tras la excitación, se activa el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA), del animal (Stephens, 1980; Grandin, 1995; Schaefer et al., 2001). La activación del eje HPA tiene importantes efectos indirectos eventuales sobre la calidad de la carne (Schaefer et al., 2001). Esto genera un aumento del metabolismo muscular aumento en la producción de calor y, por lo tanto, aumenta el consumo de oxígeno al aumentar aún más las reacciones enzimáticas. La liberación de hormonas asociadas, enfatizan vía anaeróbica de la glucólisis ya que las demandas de oxígeno para la glucólisis aeróbica no se cumplen debido a la capacidad disminuida de oxígeno por lo que se genera una mayor proporción de ácido láctico. Muchos elementos de la calidad de la carne, como el color, capacidad de retención de agua y la textura, se ven afectados por el estrés previo a la cosecha. En términos de calidad de la carne, los principales cambios metabólicos, según la influencia del estrés previo a la cosecha, son el agotamiento del glucógeno y la consiguiente incapacidad del músculo para desarrollar niveles adecuados de acidez *post-mortem* (Gregory y Grandin, 1998). Los niveles inadecuados de acidez *post-mortem* impiden que el músculo alcance el pH muscular normal (5.6–5.8), tras la resolución del rigor y comúnmente se observa la condición de DFD. Varios factores estresantes ante-mortem se han relacionado con defectos de calidad de la carne PSE (Rosenvald y Andersen, 2003), y DFD (Apple et al., 1995).

1.5.1.3 Transporte

Es un factor importante ya que la mayor parte de los traumas que se traducen en hematomas ocurren durante el transporte, camiones indebidamente ventilados o condiciones climáticas calurosas causan enormes molestias a los animales. Además de las pérdidas anteriores, la contracción del tejido muscular y la reducción del peso de la canal son una consecuencia del transporte prolongado. El transporte ocasiona un gran estrés psíquico y físico que se traduce en pérdidas (0.5 a 3 %), que pueden ocurrir durante e inmediatamente después del transporte el estrés causado durante el transporte altera la concentración de las variables fisicoquímicas del metabolismo, de los indicadores de inflamación y de las hormonas esteroideas que se consideran como biomarcadores de estrés e inmunosupresión. El transporte supone un cambio ambiental que desafía la actividad del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenales lo que produce un aumento de los niveles de cortisol plasmático y sus metabolitos. Asimismo, el proceso de adaptación supone un gasto energético importante lo que se traduce en un incremento sanguíneo de ciertos metabolitos como el lactato y la glucosa. Cuando el animal realiza ejercicio por encima de lo normal, este se ve reflejado en un aumento de la enzima creatina quinasa (CK), indicadora de actividad muscular y daño de membranas. Está ampliamente generalizada la opinión de que tiempos de transporte inferiores a 4 horas tienen un escaso efecto sobre el pH a 24 horas, siempre que las condiciones del mismo sean apropiadas. Sin embargo, ha sido demostrado que viajes aún en cortas distancias, pueden deprimir los contenidos de glucógeno en músculo e incrementar la temperatura muscular, aunque no siempre se vea reflejado en el pH último de la carne. Por lo tanto, el transporte en asociación con otros factores como formación de lotes con animales desconocidos, prolongado tiempo de espera, privación de agua y temperaturas ambientales extremas contribuyen a obtener carnes DFD y PSE (Rosenvald y Andersen, 2003).

1.5.2 Transformación del músculo en carne

Se produce una compleja cascada de cambios energéticos, bioquímicos y físicos en el músculo que resulta en su conversión en carne. El proceso comienza poco después de la

cosecha cuando se interrumpen muchos de los mecanismos homeostáticos del animal. A medida que el animal sucumbe al desangrado y la anoxia resultante, el músculo esquelético continúa sintetizando y utilizando el ATP en un intento inútil por mantener la homeostasis celular. Una vez que el oxígeno se agota del músculo, el glucógeno y los compuestos de fosfato de alta energía presentes en el músculo en el momento de la muerte se metabolizan anaeróbicamente con el único propósito de producir ATP. El metabolismo anaeróbico es significativamente menos eficiente en la generación de ATP que el metabolismo aeróbico. Como resultado, la tasa de hidrólisis de ATP excede su generación, lo que desencadena la aparición *de rigor mortis* (rigidez de la muerte). A medida que avanza el metabolismo *post-mortem*, el músculo pierde gradualmente la capacidad de generar ATP y, finalmente, todas las moléculas de ATP se agotan. En ausencia de ATP, la miosina se une irreversiblemente a la actina, lo que lleva a la finalización del *rigor mortis* y la pérdida de la excitabilidad y extensibilidad muscular, *o*curre entre 1-12 h *post-mortem*, dependiendo principalmente de la especie, el tipo de fibra muscular y las condiciones *ante-mortem* y *post-mortem*. Durante el almacenamiento *post-mortem*, la degradación proteolítica de las proteínas del citoesqueleto provoca la pérdida de la integridad estructural del músculo y, por lo tanto, una disminución de la tensión muscular (resolución del rigor mortis durante la maduración), (Matarnenth et. al, 2017).

Otro cambio significativo ocurre en el músculo *post-mortem* en condiciones anaeróbicas, la acidificación. El producto final de la glucólisis *post-mortem* y la hidrólisis de ATP, iones lactato e hidrógeno (Hþ), respectivamente, se acumula en el músculo debido a la falta de un mecanismo de eliminación efectivo. Como resultado, el pH muscular disminuye gradualmente de alrededor de 7.2 en el tejido vivo a un pH final cercano a 5.6. La tasa y el alcance del metabolismo *post-mortem* influyen significativamente en el desarrollo de los atributos de calidad de la carne. La disminución del pH *post-mortem* acelerada, prolongada o insuficiente influye negativamente en el color de la carne, la textura y la capacidad de retención de agua (Matarnenth et al. 2017).

1.6 Efectos en la calidad de la carne

1.6.1 Carne pálida, suave y exudativa (PSE)

La condición PSE resulta de una serie de procesos bioquímicos en el músculo, en especial, la rápida descomposición del glucógeno. La carne entonces se vuelve muy pálida y adquiere una acidez muy pronunciada, valores de pH (5,4 - 5,6), inmediatamente después del sacrificio, como se muestra en la Figura 9 y con poco sabor. Este tipo de carne es difícil de aprovechar, y de hecho no la pueden usar los carniceros o los procesadores de carne. En casos extremos se desperdicia. Si se permite que los cerdos descansen una hora antes de su sacrificio, y se les da un buen manejo, se reduce considerablemente el riesgo de presentar PSE (Philip & Temple, 2011).

1.6.2 Carne oscura, firme y seca (DFD)

La carne de la canal es más oscura y más seca de lo normal, y tiene una textura más firme. El glucógeno muscular se consume durante el transporte y el manejo en el período anterior al sacrificio. Por consiguiente, hay poca generación de ácido láctico luego del sacrificio, produciéndose así una carne DFD. Esta carne es de una calidad inferior, ya que el sabor menos acentuado y su color oscuro son poco apetecidos por el consumidor. Tiene una menor vida útil por sus niveles de pH anormalmente altos (6,4 - 6,8), como se muestra en la Figura 9 La carne con la condición DFD implica que la canal procedió de un animal

estresado lesionado o enfermo antes de su sacrificio (FAO, 2015).

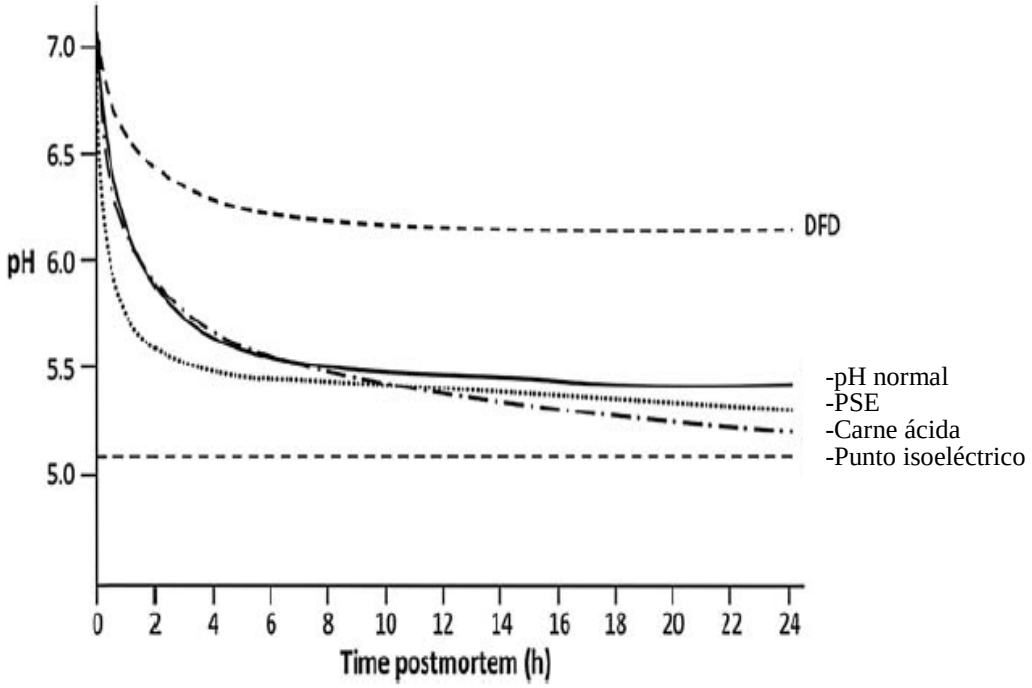

Figura 9. Influencia de la tasa y el grado de disminución del pH post-mortem en las características de calidad de la carne.

Fuente: Wismer Pedersen, 1971

1.7 Microbiología de la carne

Es evidente que, por sus características, la carne es un buen sustrato para la multiplicación de microorganismos, especialmente bacterias, tanto alterantes como patógenas. Aunque el músculo de un animal sano es estéril, la carne, incluso cuando se obtiene en condiciones higiénicas adecuadas, presenta una contaminación superficial de 10^2-10^4 UFC/cm^2. Durante el almacenamiento, dependiendo de la temperatura y composición de gases en la atmósfera, se multiplican diversos grupos microbianos que serán los responsables de los cambios organolépticos asociados con la alteración (Rodríguez C., J. M., 2006).

1.7.1 Microbiota de origen

La procedencia de los microorganismos es principalmente del animal vivo y su ambiente. Durante el transporte al matadero, los animales sufren estrés y, además, están en estrecho contacto entre ellos y con materia fecal. El ayuno tiene efectos beneficiosos, pero también perjudiciales, ya que se ha demostrado que el estrés asociado al transporte favorece la diseminación de algunos patógenos (Johnston, 2000).

Durante los procesos de matanza y transformación del músculo en carne, si se realizan de forma incorrecta, aportan microorganismos patógenos y alterantes procedentes del intestino, aparato respiratorio y de la piel del animal y del medio ambiente del matadero. Las posibilidades de contaminación aumentan en las fases posteriores como el despiece (ICMSF, 2005).

Los grupos microbianos utilizados para evaluar la higiene de los procesos son los recuentos de microbiota aerobia mesófila (35±2°C).

Para asegurar una adecuada vida útil se recurre a recuentos de bacterias psicrótrofas aerobias y recuentos de grupos específicos de microorganismos alterantes (*Pseudomonas*, *Brochothrix thermosphacta)*, bacterias ácido lácticas (BAL), clostridios psicrótrofos, mohos y levaduras), También se han recomendado la determinación de pH, de la capacidad de retención de agua y del contenido en ácido D- y L- láctico. Finalmente, el recuento de estafilococos coagulasa positivos es un reconocido indicador de manipulación humana (Gill, 1986; Mead, 2000).

Los niveles de microbiota aerobia mesófila, son buenos indicadores de la calidad microbiológica general tanto del producto como del equipo utilizado en el proceso, así como de la vida útil. El grupo de bacterias coliformes (capaces de crecer a 37 °C y fermentar la lactosa con producción de gas), incluye tanto a mesófilos como a psicrótrofos. Entre los coliformes mesófilos se encuentra *E. coli* que es un aceptado indicador de contaminación fecal como también lo son las enterobacterias (Gill, 2000; ICMSF,2005).

La utilidad del pH como indicador de alteración por contaminación microbiana está documentada, ya que aumenta de forma significativa cuando la microbiota total alcanza

valores próximos a 10^8 UFC/cm^2, debido a la producción bacteriana de compuestos como amoniaco y dimetil sulfuro (García-López y col., 1998).

La capacidad de retención de agua es un parámetro que se ha utilizado como un indicador de alguna alteración en carne fresca desde que Jay y Kontou (1964), demostraron la relación inversa entre el grado de alteración de la carne picada y su capacidad de retención de agua.

1.7.1.1 Bacterias ácido lácticas

La composición química de la carne fresca y sus características biológicas, permiten el desarrollo de microorganismo deteriorantes y patógenos, que disminuyen el tiempo de vida útil y algunos producen intoxicaciones o infecciones. En este sentido se han desarrollado procedimientos complementarios de conservación, que adicionales al uso de refrigeración, consiguen aumentar la vida útil y garantizar la calidad sanitaria de la carne fresca (García T., et al, 1995).

Las Bacterias acido lácticas (BAL), comprenden un número elevado de bacterias gram-positivas, cuya característica común es la producción de ácido láctico a partir de los carbohidratos. El grupo de bacterias asociadas con los alimentos incluyen cocos de géneros: *Lactococcus, Streptococcus, Pediococcus, Leuconostoc* y bacilos de los géneros *Lactobacillus* y *Carnobacterium* (Urrego V., M. C. y Cadavid R., L. A., 2005; Feria C., P. F, 2007).

Moreira Dos Santos, W. L., 1995 menciona que este grupo de bacterias probablemente sea el más abundante y difundido en la naturaleza, debido a la capacidad que poseen de crecer en una variedad de sustratos y en diversas condiciones biológicas. Dentro de las bacterias lácticas, el género Lactobacillus es el más importante y heterogéneo, incluyen especies con propiedades bioquímicas y fisiológicas muy diferentes (Parajo, J. C. et al, 1996). Las bacterias lácticas no necesitan oxígeno para crecer, son tolerantes a la presencia de CO_2, nitritos, humo y concentraciones de sal relativamente altas y toleran valores de pH bajos. Por ello las condiciones existentes en las carnes envasadas al vacío en las curadas y en los productos cárnicos favorecen el crecimiento de estos microorganismos. En la carne

envasada al vacío los microorganismos dominantes son *Lactobacillus sp*, *Leuconostoc sp* y *Carnobacterium sp* (Feria C., P. F, 2007).

1.7.2 Microorganismos alterantes

Este tipo de microorganismos actúa sobre los tejidos profundos de la carne y de otros alimentos ricos en proteínas, producida por microorganismos anaerobios, que se manifiesta por importantes modificaciones de los caracteres organolépticos, como consecuencia de la degradación de los compuestos nitrogenados (Moreno, 2006).

Estas son las modificaciones fundamentales:

- Coloraciones anormales: gris, marrón, verdoso, etc.
- Olor repulsivo: ácido, amargo, acre, amoniacal, sulfuroso, netamente putrefacto.
- Textura anormal: Ablandamiento tisular, a veces con producción de gas.
- Reacción Alcalina por predominio de sustancias Básicas: NH_3, aminas, etc.
- Microbiota abundante, con predominio de los clostridios.

Después de la muerte del animal, la carne experimenta una serie de cambios bioquímicos que repercuten en sus características organolépticos y también en sus aptitudes como sustrato para el crecimiento de los microrganismos (Moreno, 2006).

En el *rigor mortis* la carne es un mal sustrato, principalmente por el descenso de pH. El potencial redox (Eh), se hace negativo en las primeras horas, por lo que solo van a poder desarrollarse en la profundidad de los tejidos las bacterias anaerobias y anaerobias facultativas (algunas de estas últimas crecen lentamente). Pero en la segunda fase o maduración, la carne se convierte en un excelente medio para el crecimiento de los microorganismos, por la subida de pH, debida a los cambios autolíticos de los componentes nitrogenados, con formación de sustancias de reacción básica por el ablandamiento y jugosidad de los tejidos. El Eh negativo (-250 mV), permitirá el crecimiento en el interior de los tejidos de las bacterias anaerobias y anaerobias facultativas. En superficie el Eh positivo (+150 a +250mV), favorecerá el crecimiento de las aerobias (Moreno, 2006).

1.7.2.1 Mesófilos aerobios totales

En este grupo se incluyen todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a 35°C±2°C en las condiciones establecidas. En este recuento se estima la Microbiota total, sin especificar tipos de microorganismos, refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones de materia prima (Fonseca M, Avina G., 2008).

1.7.2.2 Coliformes totales

De acuerdo con la NOM-113-SSA1-1994, los coliformes, son bacilos gram-negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos que a 35° C fermentan la lactosa con formación de ácido, ocasionando en las colonias desarrolladas el vire del indicador rojo neutro presente en el medio y la precipitación de las sales biliares.

El grupo coliforme constituye un grupo heterogéneo con hábitat primordialmente intestinal para la mayoría de las especies que involucra, es constante, abundante y casi exclusivo de la materia fecal, cuenta con capacidad de sobrevivencia y multiplicación fuera del intestino.

Cuando los coliformes llegan a los alimentos, no sólo sobreviven, sino que se multiplican por lo que en los alimentos el grupo coliforme adquiere un significado distinto al que recibe en el agua. Entonces, cuando los productos alimenticios han recibido un tratamiento térmico (pasteurización, horneado, cocción, entre otros), estos microorganismos se utilizan como indicadores de malas prácticas sanitarias. Este grupo está conformado por 4 géneros principalmente: *Enterobacter, Escherichia, Citrobacter* y *Klebsiella* (Kornacki, J. L. & Johnson J. L., 2001).

1.8 Teoría de barreras

El concepto de barrera fue introducido por Leistner y Rödel en 1976. Desde el punto de vista microbiológico, la conservación de alimentos consiste en exponer a los microorganismos a un medio hostil (por ejemplo, uno o más factores adversos) , para prevenir o retardar su crecimiento , disminuir su supervivencia o causar su muerte .

Numerosos métodos de conservación (incluyendo calentamiento, enfriamiento, congelación, secado por congelación, secado, curado, salado, adición de azúcar,

acidificación, fermentación, ahumado, remoción de oxígeno, adición de dióxido de carbono e irradiación), son utilizados para hacer a la carne estable (inhibición de descomposición debido a las actividades autolíticas o autodegradativas), y segura (evitar envenenamiento con alimentos). Sin embargo, estos métodos de conservación están basados solamente en algunos pocos parámetros o barreras. Por ejemplo, F (alta temperatura), t (baja temperatura), a_w (remoción de agua disponible), pH (acidificación), Eh (modificación del potencial óxido-reducción), conservadores (nitrito, humo, dióxido de carbono, entre otros), Microbiota competitiva (BAL), y radiación (Figura 19). Más procesos son distinguibles que los parámetros que los gobiernan, así como fue planteado por Leistner et al. (1981), y Leistner (1985ª. 1987).

Las barreras son condiciones como altas temperaturas, secado, o adición de aditivos aplicados al alimento, que provocan cambios de pH mediante la acción de ácidos orgánicos, presencia de oxígeno o no para modificar el potencial óxido-reducción y los conservadores sintéticos. Como se pude observar en la Figura 10, se ejemplifican diversas combinaciones y cantidades de barreras. En general el microorganismo presente no puede superar o “saltar” estas barreras, entonces el alimento es microbiológicamente estable y seguro (Leistner L., 1988).

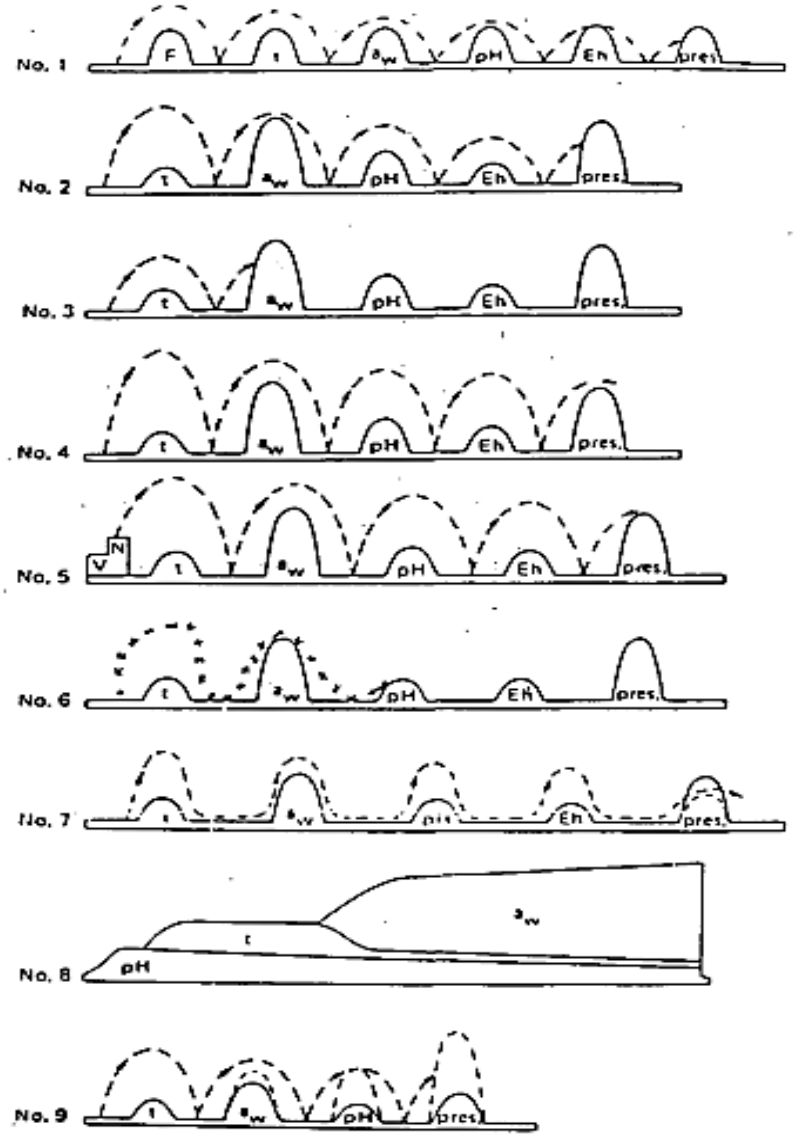

Figura 10. Efecto barrera

Fuente: Leistner L. 1988

1.8.1 Aplicación de bajas temperaturas

El agua es el componente mayoritario en los alimentos; su contenido varía dependiendo de su composición; en la carne magra de vacuno es de alrededor del 75%; mientras que en la carne de cerdo puede oscilar entre 39 y 57%, para carne grasa y magra respectivamente; para aves está cerca del 75%; para carne de pollo y de pescado normalmente se encuentra en intervalos entre 55 y 80% (Barreiro, J. A. & Sandoval, A. J., 2006).

Las temperaturas bajas se usan para retardar las reacciones químicas y la acción de las enzimas y retrasar o inhibir el crecimiento y actividad de los microorganismos que se encuentran en los alimentos. Cuanto más baja sea la temperatura, tanto más lentas serán las reacciones químicas, la acción enzimática y el crecimiento bacteriano. Las temperaturas ligeramente superiores a las de congelación, mantienen los alimentos en condiciones similares a las originales sin tratamientos previos especiales. El tiempo de almacenamiento, sin embargo, es limitado; la refrigeración es cara, siendo crítica para ciertos alimentos en almacenamiento. La congelación y conservación a temperaturas de congelación son todavía más caras y pueden ocasionar cambios perjudiciales en algunos alimentos (Amerling, C., 2001).

1.8.1.1 Refrigeración

La refrigeración es el método más usado para la conservación de la carne. Las temperaturas bajas retardan tanto el crecimiento microbiano como las reacciones químicas y enzimáticas causantes de alteraciones.

Una refrigeración adecuada depende de los siguientes factores:

- Rápida pre-refrigeración
- Temperatura adecuada de refrigeración
- Circulación y velocidad correcta del aire en las cámaras

Para prolongar el tiempo de conservación de la carne refrigerada, la aplicación de frío se complementa con procedimientos que dificulten el crecimiento de los agentes que causan alteración en las condiciones normales de refrigeración. Los más utilizados son: disminución de la humedad relativa, desecación de la superficie de las piezas, atmósfera con alta concentración en dióxido de carbono, tratamiento del alimento con antibióticos, envasado al vacío o en películas impermeables, entre otros. El tiempo de conservación de la carne se prolonga por detención y control de crecimiento de los psicrófilos (Amerling, C., 2001).

Para inhibir el crecimiento de los microorganismos, las canales deben ser refrigeradas inmediatamente después del sacrificio. Es necesario que ese enfriamiento sea rápido, ya que de lo contrario se puede producir la alteración denominada “putrefacción del hueso”, que

consiste en una alteración que se presenta en torno a los nódulos linfáticos situados en las partes profundas de las canales.

La carne refrigerada, antes de su conservación en cámaras, contiene microorganismos que crecen a bajas temperaturas (psicrófilos), con una temperatura óptima de crecimiento de 2°C a 7°C y microorganismos que crecen más lentamente a esas temperaturas como son los mesófilos.

Entre los microorganismos mesófilos cabe señalar la posible presencia de ciertas bacterias provenientes de una contaminación exógena de la carne. Estas no crecen, pero se mantienen vivas a la temperatura de refrigeración, como son *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* y *Clostridium perfringens*, principales agentes causantes de intoxicaciones alimentarias por carne. Los microorganismos psicrófilos pueden causar alteraciones en carnes refrigeradas y congeladas, cuando el periodo de almacenamiento es prolongado y las temperaturas son superiores a los -10°C. Entre este grupo se encuentran las *Pseudomonas*, aerobias, no esporuladas. Para el almacenamiento en refrigeración, las condiciones deben ser de -1°C y una humedad relativa de 90% (Amerling, C, 2001).

1.8.1.2 Congelación

La congelación es uno de los métodos más importantes para la conservación de la carne y productos cárnicos. En comparación con otros métodos, la congelación lleva a una mínima pérdida de calidad durante el almacenamiento por un periodo largo.

Se aplican 2 tipos de congelación: *rápida* y *lenta*.

La congelación rápida provoca cristales más pequeños, dando como resultado menores pérdidas de líquido celular por exudación y bajo ablandamiento de los tejidos durante la descongelación. Este tipo de congelación se lleva a una temperatura de -30°C y un tiempo de 12 a 18h. Presenta la desventaja de que el color en la superficie de la carne se torna más claro de lo normal debido a la reflexión de la luz por los cristales pequeños que se encuentran distribuidos uniformemente.

La congelación lenta genera cristales de hielo de gran tamaño, dando como resultado un producto de baja calidad, por la elevada pérdida de exudado durante la descongelación (Amerling, C., 2001)

Por otro lado, se sabe que el almacenamiento en congelación es utilizado para retardar reacciones bioquímicas indeseables en la carne, pero existe la presencia de ruptura celular y destrucción de fibras musculares debido a la formación de los tipos de cristales ya mencionados. Además, pueden ocurrir diferentes reacciones entre los componentes de la carne. Por ejemplo, la carne de pescado y pollo son susceptibles a las reacciones oxidativas debido a sus altas concentraciones de catalizadores oxidativos (como la mioglobina y hierro), y lípidos (Soyer, A., et al., 2010).

1.8.2 Envasado al vacío

El envasado al vacío es tal vez el método más común de modificar el ambiente interno del envase y es utilizado extensamente por la industria cárnica. La extensión de la vida de anaquel de las carnes envasadas al vacío radica en los cambios que se producen en las concentraciones de O_2 y CO_2 dentro del envase, generándose una selección microbiana. Como resultado, se inhibe el crecimiento de especies aerobias, especialmente *Pseudomonas*, mientras se tornan predominantes especies de *Lactobacillus* y *Brochotrix thermosphacta* (Signorini, M., 2007).

El envasado sirve como material de protección que rodea carne y productos cárnicos, previene las contaminaciones biológicas, químicas y físicas, además de los cambios sensoriales.

El envasado al vacío se ha utilizado principalmente para cortes primarios de carnes rojas, carnes cocidas, embutidos y pescados. Generalmente la nitrosomioglobina pigmentaria debe protegerse de la oxidación. Inhibe el crecimiento de bacterias aerobias.

El envasado al vacío puede controlar efectivamente el crecimiento de las bacterias en la familia *Enterobacteriaceae.* Desde una perspectiva sensorial provoca cambios de color por la presencia de desoximioglobina y una mayor dureza (Chen, J. H. Ren, et al., 2012).

1.9 Bioconservación

La bioconservación puede definirse como la extensión de la vida útil e incremento de la seguridad sanitaria de los alimentos mediante la microbiota natural, o sus metabolitos (Hugas, M., 1998). Puede ser aplicada en los alimentos en general y en las carnes, en particular a través de 4 métodos básicos de acuerdo con (Signorini, M., 2007).

1. Adición de cultivos bacterianos viables. Lo que depende de la habilidad del cultivo para crecer bajo las condiciones ambientales del alimento y las condiciones tecnológicas. No debe producir cambios sensoriales y en el caso de abuso de temperatura debe ser capaz de crecer competitivamente.
2. Adición de cultivos bioprotectores productores de bacteriocinas.
3. Mediante productos de fermentación o sus concentrados procedentes del crecimiento de bacterias lácticas en medios complejos.
4. Como sustancia purificada o semipurificada.

La bioconservación es un método de conservación que ofrece diversas condiciones para extender la vida útil y aumentar la seguridad de los alimentos, por medio del uso de una Microbiota natural o controlada y de sus productos antimicrobianos (Lewus C., y Monteville T., 1991). Diferentes estudios han aplicado la bioconservación mediante el uso de una Microbiota natural como las bacterias acido lácticas (BAL), aisladas de productos lácteos, cárnicos, pescados y vegetales, utilizando las propiedades antibacterianas, atribuidas a los productos finales de su metabolismo como el ácido láctico, acético, peróxido de hidrógeno, diacetaldehído, reuterina y bacteriocinas (Hugas M., 1998).

1.9.1 Sales de ácidos orgánicos

Se sabe del uso de conservadores naturales, los de mayor potencial en la industria cárnica son las bacteriocinas, los lactatos y los extractos de semilla de toronja. Las sales derivadas del ácido láctico están naturalmente presentes en la carne y su uso es permitido como conservador por el Food Safety and Inspection Service-USDA (USDA-FSIS), en la cantidad límite de 3g/100g de carne (Gómez C.,L., et. al., 2013).

1.9.1.1 **Lactato** de **calcio**

Las sales de ácidos orgánicos como el lactato de calcio han sido utilizadas en la industria de la carne por su habilidad para resaltar el sabor, prologar la vida de anaquel, y mejorar la seguridad microbiológica de los productos.

La Carne y productos cárnicos son considerados como una fuente menor de calcio (Fennema, 1996), por lo que la adición de una solución de lactato de calcio es útil para enriquecer los productos con este mineral, el lactato de calcio ayuda a mantener la terneza y palatabilidad de los productos cárnicos (Raham S., M. E., et al., 2013).

1.10Tecnologías emergentes no térmicas

La evolución de los procesos alimentarios está impulsada por los cambios en las preferencias de los consumidores y la necesidad de producir alimentos seguros y de alta calidad. Las tecnologías emergentes parecen ser la mejor alternativa para lograr las características mencionadas. Estas tecnologías, que incluyen el uso de alta presión, pulsos eléctricos, microfiltración y ultrasonidos, están especialmente diseñadas por la economía, la simplicidad y la eficiencia energética. Además de eso, el ultrasonido es considerado un proceso ecológico que se utiliza para garantizar alimentos seguros y de alta calidad (F. Chemat, M. A., 2017).

1.10.1 Ultrasonido

El ultrasonido es una forma de energía generada por una onda mecánica longitudinal cuya frecuencia de vibración es mayor a 20,000 ciclos por segundo (20 kHz), que está por encima del límite audible para los humanos. El sonido se considera una onda de presión con propagación unidimensional. La velocidad de un pulso ultrasónico depende de las propiedades acústicas del medio, y la velocidad de propagación del sonido es mayor en sólidos que en líquidos y mayor en líquidos que en gases (M. R. Kasaai, 2013).

En un sistema de ultrasonido, la energía eléctrica se transforma en la que ha sido transmitida a través de un medio sonicado. Parte de la energía de entrada se pierde a través de la conversión en calor, y el resto puede producir cavitación. Una fracción de la energía

de cavitación produce efectos químicos, físicos o biológicos, mientras que otras fracciones se reflejan y consumen en la reemisión del sonido (Alarcón, R. A. D., et al., 2019).

1.10.1.1 Clasificación del Ultrasonido

El ultrasonido varía de 20 kHz a 10 MHz y se divide en tres categorías:

1) Alta intensidad (>5W/cm^2 o 10-1000W/cm^2) y baja frecuencia (20-100 kHz)
2) Intensidad media y frecuencia intermedia (100 kHz-1 MHz)
3) Baja intensidad (<1W/cm)

Se utilizan 3 métodos diferentes para aplicar ultrasonido a los productos: aplicación directa, acoplamiento al dispositivo, e inmersión en un baño de ultrasonido (F. Chemat, Zill-E-Huma, MK Khan, 2011).

El ultrasonido de alta frecuencia y baja intensidad tiene aplicaciones analíticas que proporcionan información sobre las propiedades fisicoquímicas de los alimentos, como la composición, la estructura y el estado (A. Demirdöven, T. Baysal, 2009) Además, a diferencia de las técnicas analíticas no es invasiva ni destructiva.

El ultrasonido de lata potencia, también conocido como ultrasonido de alta intensidad, causa cambios en las propiedades físicas, químicas o mecánicas de los alimentos (Alarcón, R. A. D., et al., 2019).

1.10.1.2 Mecanismo de acción

Dependiendo el rango de frecuencia, y el tipo de prueba a realizar que puede ser destructiva o no destructiva, se generan fenómenos en la materia que se somete a este tipo de tratamiento.

Las pruebas de tipo “destructivo” se utilizan para deshacerse de objetos muy específicos. Lo anterior se rige por la intensidad acústica (W/m^2), que puede causar 2 efectos, la cavitación acústica y las ondas de choque, al modular la frecuencia.

La onda acústica en frecuencia constante genera un fenómeno conocido como cavitación acústica. Esto ocurre durante la compresión y expansión de la onda, como se muestra en Figura 11.

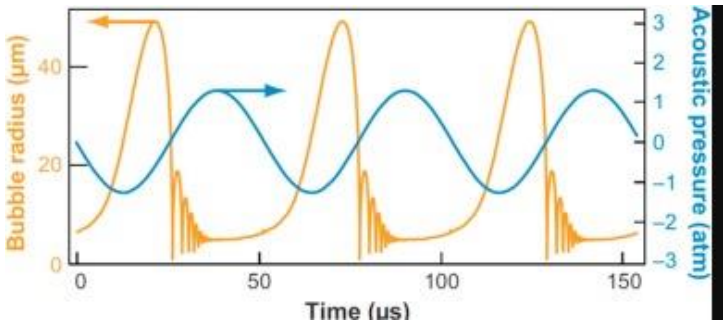

Figura 11. Formación y colapso de burbujas en estado estacionario

Fuente: Alarcón R., A. D. et al.,2019

La cavitación acústica es el crecimiento y colapso de las burbujas de vapor incrustadas en un medio fluido, se produce un cambio de estado debido a la temperatura elevada y el fenómeno ocurre cuando la presión en un fluido disminuye rápidamente, creando pequeñas burbujas; luego, cuando la presión del fluido aumenta nuevamente, las burbujas implosionan (L. Crum, 1994).

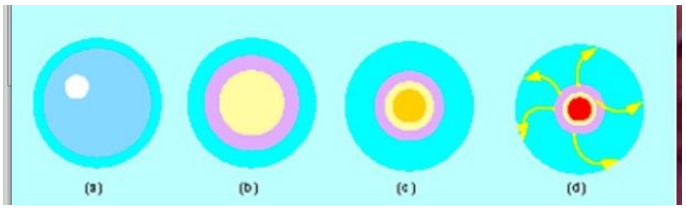

Figura 12. Pasos durante la cavitación de burbujas

(a) colapso de la burbuja de vapor; (b) y (c) onda de choque intrínseca; (d) aumento de la temperatura y emisión de luz

Fuente: Alarcón R., A. D. et al., 2019

Como se observa en la Figura 12, las cavidades gaseosas aumentan de tamaño hasta que alcanzan su volumen máximo. Por lo tanto, cuando la onda va de pico a valle durante la presión, la energía potencial obtenida durante el crecimiento se transforma en energía cinética durante la implosión. Las cavidades colapsan hasta que se obtienen tamaños de burbuja más pequeños que los generados originalmente. Las implosiones de burbujas vecinas en una interfaz son asimétricas y crean microjets de fluido que afectan la interfaz Figura 13. La velocidad media de los microjets varía de 100 a 340 m/s dependiendo del

perfil de presión y el diámetro inicial de la burbuja, que puede variar de 10 a 100 µm (WB McNamara II, et al., 1999).

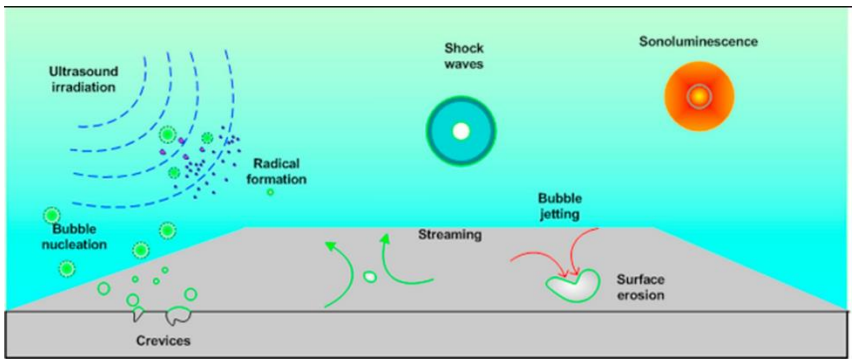

Figura 13. Fenomenología de la cavitación ultrasónica

Irradiación ultrasónica. Formación de radicales.Ondas de choque. Sonoluminiscencia., Nucleación de burbujas y grietas. Erosión superficial,

Fuente: Alarcón R., A. D. et al.,2019

1.10.1.3 Efectos de la ultra sonicación en la carne

Muchos estudios recientes han reportado usos potenciales de ultrasonido de alta intensidad en carne fresca. Se han publicado aplicaciones con interesantes ventajas en congelación, descongelación, inmersión en salmuera, cocción, inhibición bacteriana y ablandamiento.

Existen diversos efectos del ultrasonido de alta intensidad en la carne y productos cárnicos, principalmente sobre el pH, laCRA y la Microbiota presente.

El efecto del ultrasonido sobre el pH, ha sido analizado en varios estudios y condiciones. Algunos autores han informado que el pH inicial de la carne puede aumentar como resultado del tratamiento con ultrasonido (2.6 MHz, 10 W/cm^2), antes del *rigor-mortis*, sin diferencias en el pH final, mientras que otros informaron pequeñas diferencias (J. Stadnik,ZJ Dolatowski, HM Baranowska, 2008), o sin diferencias en el pH debido a la ecografía (2W/cm^2, 45kHz), después de 24, 48, 72 y 96 h *post-mortem*.

El aumento del pH se atribuyó a la liberación de iones de la estructura celular al citoplasma o a cambios en la estructura de la proteína, lo que podría conducir a cambios en la posición de los grupos funcionales que modifican el pH muscular.

La capacidad de retención de agua (CRA), particularmente en proteínas miofibrilares ha sido investigada. Algunos autores informaron que después de aplicar un tratamiento de ultrasonido de ultrasonido (100W) de10 min, la CRA de las proteínas miofibrilares de la carne aumentó del 45% al 53%. Además, si aumenta la intensidad o el tiempo de sonicación, la CRA se puede mejorar hasta un 90% (30 min 300W). Una posible explicación podría ser que las intensidades de sonicación aumentadas causan una mezcla a microescala más vigorosa y turbulenta, lo que hace que los solutos se difundan (H. Kim, K. S., 2018).

Con respecto a las propiedades antimicrobianas del ultrasonido de alta intensidad, se sabe que éste ofrece una alternativa a los métodos tradicionales de conservación de alimentos y se considera una tecnología verde, versátil y emergente.

La efectividad antimicrobiana del ultrasonido depende de factores como el tiempo de tratamiento,, el tipo de microorganismo, la cantidad de alimento, la composición y temperatura del tratamiento.

La cavitación intracelular produce el adelgazamiento de las membranas celulares, el calentamiento y la producción de radicales libres tales como H_2O_2, cuyo radical hidroxilo daña la membrana celular y el ADN. Según los informes, las bacterias Gram positivas son más resistentes al ultrasonido, ya que la estructura de la pared celular que poseen estos microorganismos es más gruesa, debido a la capa de peptidoglucano y protege a la célula de la sonicación (Alarcón, R. A. D., et al., 2019).

Justificación

En México el consumo de carne de conejo es aproximadamente de 100g *per cápita*, mucho menor que los consumos de especies como bovinos y porcinos, esto se debe principalmente al desconocimiento de sus características nutritivas, económicas y sensoriales, lo que representa un área de oportunidad para utilizar la carne de conejo como objeto de estudio, dando así a conocer sus atributos.

La carne es un producto altamente perecedero. Actualmente la industria cárnica se ha enfocado en el uso de tecnologías que permitan obtener productos inocuos, a partir de aplicación de la teoría de barreras, con el aumento (deshidratación, secado), o diminución de la temperatura (refrigeración, congelación), y adición de conservadores químicos principalmente; sin embargo, estos métodos llegan a modificar de manera indeseable las propiedades físicas, químicas y organolépticas del producto.

Con el fin de evitar o disminuir lo anterior se ha implementado el uso de tecnologías emergentes no térmicas, como lo es el ultrasonido, el cual debido a la generación del fenómeno de la cavitación es capaz de destruir las paredes y el ADN de algunas células microbianas, además de que propicia cambios estructurales en las proteínas miofibrilares de la carne lo que lleva a la modificación, hasta cierto punto deseable, de las propiedades de esta. Por otro lado, estudios comprueban que la combinación de ultrasonido con otro método de conservación como lo es la adición de algún antimicrobiano natural es capaz de mejorar la calidad microbiológica, porque se genera un daño letal en aquellos microorganismos alterantes o patógenos presentes.

El lactato de calcio es una sal, la cual es un conservador natural utilizado para el control de crecimiento microbiano, extendiendo la vida útil y mejorando sus atributos sensoriales. Es GRAS (generalmente reconocida como segura), de acuerdo con los estándares de la FDA (Sallam,2007).

Por lo anterior, el presente trabajo pretende aplicar envasado al vaío, refrigeración a 4°C, en conjunto con la adición de una solución de lactato de sodio con la finalidad de identificar los efectos de los tratamientos en las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la carne de conejo y establecer su calidad sanitaria después de 14 días de almacenamiento.

Hipótesis

Si la aplicación de ultrasonido de alta intensidad en combinación con la aspersión de una solución de lactato de calcio al 3% es capaz de aumentar el pH de la carne, adicional al fenómeno de cavitación, a su vez genera un cambio en la conformación estructural de las proteínas miofibrilares aumentando la CRA y al mismo tiempo daña la membrana celular microbiana en la superficie del alimento, entonces se espera una disminución en la cuenta total de log de UFC/g tanto de microorganismos mesófilos aerobios y de coliformes totales, además de un efecto benéfico en las propiedades funcionales del tren posterior de conejo, envasado al vacío y almacenado en refrigeración a 4°C durante 14 días, alargando con esto su vida útil.

Objetivo General

Evaluar la aspersión de una solución de lactato de calcio [3%] en combinación con la aplicación de ultrasonido de alta intensidad (47kHz, t=10min), en el tren posterior de conejo envasado al vacío y refrigerado a 4°C a los 2, 7 y 14 días de almacenamiento, mediante la determinación de propiedades fisicoquímicas (pH), microbiológicas (mesófilos aerobios, coliformes totales), y funcionales (CRA), para el análisis del efecto de la combinación de métodos en la calidad del alimento.

Objetivo Particular 1

Analizar el efecto conservador de la aspersión de una solución de lactato calcio [3%] y la aplicación de ultrasonido de alta intensidad (47 kHz, t=10min), por separado y en combinación, en el tren posterior de conejo envasado al vacío y refrigerado a 4°C a los 2, 7 y 14 días de almacenamiento, mediante la determinación de pH, para establecer los cambios en su calidad.

Objetivo particular 2

Identificar el efecto conservador de la aspersión de una solución de lactato de calcio [3%], solo y en combinación con la aplicación de ultrasonido de alta intensidad (47kHz, t=10 min), en el tren posterior de conejo envasado al vacío y refrigerado a 4° C a los 2, 7 y 14 días de almacenamiento, mediante la determinación de la presencia de microorganismos mesófilos aerobios y coliformes totales en placa, para establecer la calidad microbiológica del producto.

Objetivo particular 3

Verificar el efecto conservador de la aspersión de una solución de lactato de calcio [3%] sola y en combinación con la aplicación de ultrasonido de alta intensidad (47kHz, t=10min) en el tren posterior de conejo, envasado al vacío y refrigerado a 4°C a los 2, 7 y 14 días de almacenamiento, mediante la determinación de su CRA para analizar la influencia de los tratamientos en las propiedades funcionales y calidad del alimento.

CAPITULO 2

“METODOLOGÍA EXPERIMENTAL”

2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1 Materiales y métodos

En este capítulo se establecen las condiciones de trabajo, obtención de materia prima y la unidad experimental, tratamientos que se aplicaran, así como la definición de los lotes experimentales, las pruebas efectuadas y el análisis estadístico bajo el cual se rige la experimentación.

2.2 Obtención de materia prima

Se trabajó con conejos de la raza chinchilla de 73±2 días clasificados como México extra por la NMX-FF-105-SCFI-2005, obtenidos del módulo de cunicultura perteneciente al Centro de Enseñanza Agropecuaria (CEA) de la FESC-UNAM Campo 4, posteriormente fueron trasladados al área de matanza del Taller de Carnes de la misma Facultad, en donde se les dio muerte de acuerdo a lo aplicable en la NOM-033-SAG/ZOO-2014.

En la Figura 14 se muestra el diagrama de proceso de las actividades que se llevaron a cabo para la ejecución del presente proyecto, y posteriormente se brinda una breve descripción de cada una de ellas.

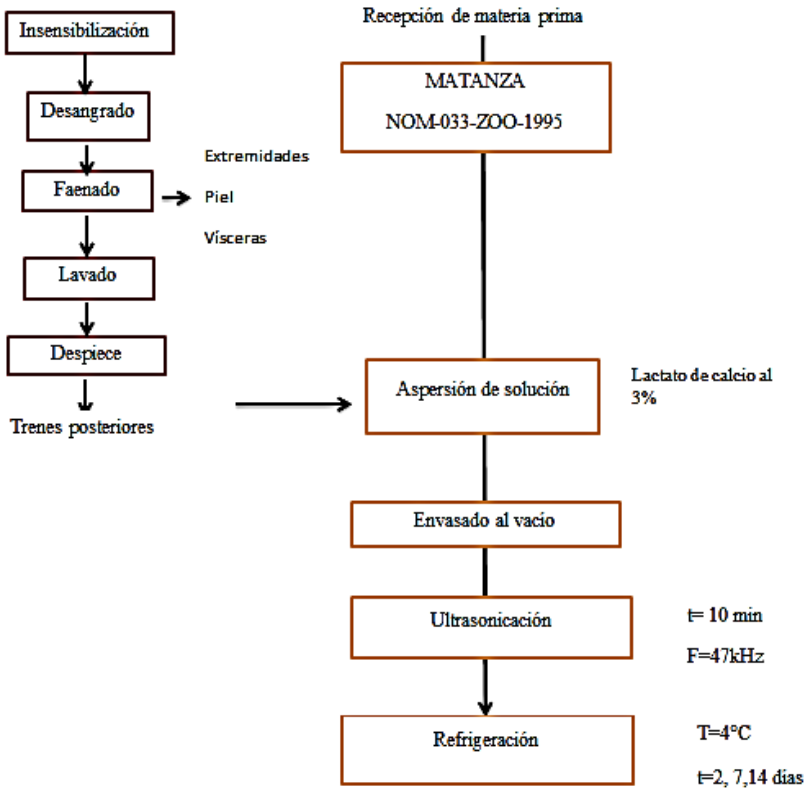

Figura 14. Diagrama de proceso para la aplicación de métodos en tren posterior del conejo

Figura 15. Conejo raza Chinchilla de 73±2 días

Se llevó a cabo la insensibilización de los conejos, a través de la dislocación atlanto-occipital, provocada por el estiramiento, simultáneo y en sentidos opuestos, de las patas y la cabeza, ésta última echada hacia atrás como se puede observar en la Figura 16.

Figura 16. Insensibilización del conejo

Figura 17. Desangrado del conejo

Inmediatamente después, se realizó un corte de manera perpendicular en el cuello del conejo Figura 17, lo que abrió su arteria carótida para que se desangrara.

Como siguiente operación, se llevó a cabo el faenado que consistió en retirar mediante diferentes cortes las extremidades superiores e inferiores del cadáver y en seguida:

- El desollado, cuyo propósito es retirar toda la piel, y finaliza con la extracción de las glándulas anales, operación crucial pues de ello depende evitar alguna contaminación y olores o sabores desagradables en la carne.
- El eviscerado (Figura 18), que como su nombre lo indica consiste en retirar las vísceras mediante el corte de la masa muscular abdominal. Operación que también debe realizarse con extremo cuidado pues si se daña algún órgano se corre el riesgo de derramar su contenido y en consecuencia contaminar la canal.

Cabe mencionar que entre cada operación y/o corte se limpiaron los utensilios con ayuda de un enjuague bajo chorro de agua.

En la Figura 19 se puede observar que se realizó una evisceración correcta, ya que ningún órgano presentó daño físico.

Figura 18. Faenado: corte de extremidades y desollado

Figura 19. Eviscerado

La obtención de las canales concluyó con el lavado con agua a presión de las mismas Figura 20, ésta operación se realiza con la finalidad de retirar la sangre residual y cualquier otro foco de contaminación física, como restos del pelaje del animal, que puede causar estragos durante el despiece.

Figura 20. Lavado de la canal

2.3 Preparación de unidades experimentales

Una vez obtenidas las canales, se realizó la disección de los trenes posteriores. Se trabajó con ambos miembros posteriores, los cuales poseían un peso entre 190g y 215g cada uno. Posteriormente, se prepararon cuatro lotes a los cuales se aplicaron los tratamientos indicados en el cuadro 4.

Para el envasado al vacío, se utilizaron bolsas tipo pouch, en cada una se colocó uno de los 2 miembros posteriores, y en seguida se sellaron al vacío en un equipo marca MULTIVAC.

El lote 1, o lote control, únicamente fue envasado al vacío como ya se mencionó y refrigerado.

Los lotes 2 y 4 fueron asperjados con una solución de lactato de calcio al 3% (proveedor MAKIMAT), y tras el envasado en el mismo tipo de bolsas, fueron selladas al vacío de la misma forma.

Para el caso de los lotes 3 y 4 se efectuó la aplicación de ultrasonido de alta intensidad en baño ultrasónico (marca Cole Parmer), este tratamiento posterior al envasado al vacío solo y en combinación con el lactato de calcio respectivamente para cada lote.

Los 4 lotes, se almacenaron en refrigeración a 4°C durante 2, 7 y 14 días, para su análisis de pH, CRA y calidad microbiológica.

Cuadro 4. Lotes a evaluar

Lotes (tratamientos y condiciones)	Pruebas efectuadas
Lote (Control) 1: Envasado al vacío [P=850±5mbar] y refrigerado a 4°C.	-**Microbiología** (bacterias aerobias totales (NOM-092-SSA1-1994) y coliformes totales (NOM-113-SSA1-1994). -**pH** (medición electrométrica NMX-F-317-NORMEX-2013 -**CRA** (técnica de centrifugación a alta velocidad Bouton, et. al., 1971).
Lote 2: Adición de lactato de calcio [3%], envasado al vacío [P=850±5mbar] y refrigerado a 4°C.	
Lote 3: Envasado al vacío [P=850±5mbar] Ultrasonicado [47kHz, t=10min], y refrigerado a 4°C.	
Lote 4: Adición de lactato de calcio [3%], envasado al vació [P=850±5mbar], Ultrasonicado [47kHz, t=10min, y refrigerado a 4°C.	

2.4 Tratamiento con lactato de calcio

Se preparó una solución de lactato de calcio [3% m/v] con la materia prima en polvo (proveedor MAKIMAT), la solución se dispersó en un frasco con agua potable, ambos estériles. Se procedió a una segunda esterilización ahora por filtración con una membrana de nitrocelulosa, con poros de 0.2 µm marca MILLIPORE. El filtro se conectó a una jeringa sin aguja de 50 mL, se quitó el émbolo y se vertió allí la solución de lactato de calcio, se colocó nuevamente el émbolo y lentamente se presionó para que la solución fuese filtrada (Figura 22c). Finalmente, con ayuda de jeringas de 5 mL con aguja se tomaron 2 mL para cada tren posterior, y se colocaron en una hielera para mantener la solución a 4°C. Se bañó cada miembro posterior con 2 ml de solución, 1 ml para cada lado, cubriendo completamente toda la superficie Figura 21.

Figura 21. Aspersión de lactato de calcio sobre miembro posterior de conejo

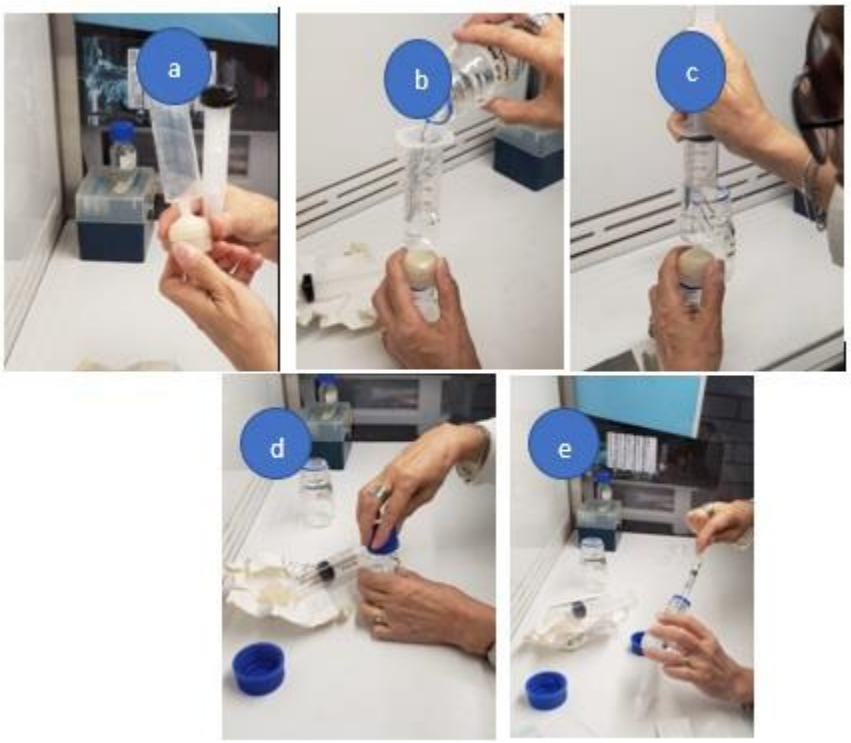

Figura 22. Esterilización por membrada de la solución de lactato de calcio

2.5 Envasado al vacío

Cada miembro posterior con su respectivo tratamiento fue colocado en bolsas lisas tipo pouch fabricadas por Basser Vacuum con polietileno de alta densidad y barreras, que impiden el paso del oxígeno y humedad, su espesor es de 70 µm y mide 20 cm de ancho por 30 cm de largo. Finalmente se llevaron a una envasadora marca MULTIVAC Figura 23.

Figura 23. Envasadora al vacío marca MULTIVAC modelo A300

2.6 Ultrasonicación

Se utilizó un baño ultrasónico 08891 (Cole Parmer EUA), el cual maneja una frecuencia de 47kHz y potencia de 80W. Durante la operación del equipo, para impedir que la muestra toque las paredes del equipo y permitir una correcta propagación de ondas sobre la muestra, se colocaron dos bandas horizontales como se muestra en la Figura 24.

En el baño ultrasónico el medio de propagación utilizado fue agua a 4°C ±2°C, sin embargo, con la finalidad de evaluar el tratamiento de ultrasonido sin la influencia la temperatura mantener la temperatura, se adicionaron hielos.

Las muestras fueron sometidas a Ultrasonicación durante 10min, para un tratamiento homogéneo, se dio vuelta la muestra a los 5 min, para que cada parte fuera tratada a las mismas condiciones.

Figura 24. Baño ultrasonidomodelo 08891

De acuerdo con (Piñon et. al., 2018), donde menciona que se debe almacenar la muestra envasada al vacío 48h a 4°C, para permitir la adaptación de la microbiota a las condiciones de envasado y refrigerado, y posteriormente aplicar el tratamiento de ultrasonido. De acuerdo con lo anterior las muestras se sometieron a ultrasonicación después de 2 días de almacenamiento.

2.7 Refrigeración

Las muestras tratadas de todos los lotes se almacenaron durante 2, 7, 14 y días en refrigeración a 4°C Figura 25.

Figura 25. Refrigeración de muestras envasadas al vacío

2.8 Evaluación de la calidad microbiológica

Se evaluó la calidad microbiológica de los 4 diferentes tratamientos presentados en el cuadro 5 a los 2, 7, 14 días.

La evaluación se llevó a acabo de acuerdo con la metodología señalada en las normas **NOM-110**-SSA1-1994 Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico, **NOM-092**-SSA1-1994 Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa, y **NOM-113**-SSA1-1994 Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

2.8.1 Preparación de solución salina fisiológica

Se realizó con base en lo establecido por la **NOM-210**-SSA1-2014, donde menciona que para 1L de agua se adiciona 8.5g de NaCl, la solución se almacenó en un frasco tipo Schott. Se utilizaron 90 ml de solución fisiológica para la solución primaria, y en 5 tubos de ensaye con tapa de rosca de 16 x 150mm se agregan 9 ml de solución para preparar 5 diluciones decimales seriadas. Se esterilizó el material en un Autoclave a 121 °C durante 15 min (15 lb./in^2).

2.8.2 Preparación de medio de cultivo: Agar cuenta estándar

Se realizó de acuerdo con lo establecido en la **NOM-092**-SSA1-1994 en un frasco tipo Schott, se agregaron 300ml de agua, 0.75g de extracto de levadura, 1.5 g de tripona, 0.3g de Dextrosa y 4.5g de agar, y se homogeneizaron por completo los reactivos mediante agitación. Se esterilizó en una autoclave a 121°C durante 15min (15lb/in^2), se deja enfriar a 45°C±1°C y se vertió aproximadamente 15ml en cajas Petri, y se incubaron durante un día a 35±2°C para probar su esterilidad.

2.8.3 Preparación de medio de cultivo: Rojo violeta bilis

La preparación de medios de cultivo se realizó de acuerdo con lo establecido en la NOM-092-SSA1- 1994.

En un frasco Marca Schott Duran, se agregaron 300ml de agua, 12.45 g de agar rojo-violeta-bilis lactosa (RVB), y se homogeneizaron por completo los reactivos mediante agitación, hasta que se obtuvo una mezcla como se muestra en la Figura 26. Posteriormente se esterilizó en una autoclave Hirayama modelo HV-50, a 121°C, 15 lb/in^2 durante 15min (15Ib/in^2), tras lo cual se dejó enfriar y se agitó para lograr su incorporación completa, posteriormente se sirvieron a 45°C±1°C aproximadamente 15ml en cajas Petri y se incubaron durante un día a 35±2°C como prueba de esterilidad como se muestra en la Figura 26.

Figura 26. a) Servido de cajas Petri, b) Prueba de esterilidad de cajas Petri

2.8.4 Esterilización del material

La esterilización del material se realizó en la misma autoclave, a las condiciones 121°C, 15 min y 15 Lb/in^2.

Se esterilizaron los siguientes materiales, solución salina fisiológica, medios de cultivo (agar cuenta estándar y rojo-violeta-bilis), caja de puntas de 1ml y 20μl para micropipeta envueltas en papel aluminio.

Para esterilizar utensilios como: cuchillos, vasos de licuadora se empleó Luz UV, dentro de una campana de flujo laminar Marca Nuaire, modelo UN-126-400.

2.8.5 Preparación de la dilución primaria

Se utilizaron los materiales previamente esterilizados con rayos UV, (cuchillo, vaso de licuadora). Se procedió a preparar la dilución primaria, en ambiente estéril, para lo cual se encendieron dos mecheros Fisher. Se pesaron 10 g de muestra, la cual se colocó en el vaso de licuadora y se adicionaron 90 mL de solución fisiológica estéril y se licuo durante 90 s, Figura 27.

La dilución primaria se preparó por triplicado para cada día de determinación.

Figura 27. Preparación de la dilución primaria

2.8.6 Diluciones decimales

De acuerdo con la NOM-110-SSA1-1994 se tomó 1 mL de dilución primaria la cual se transfirió al tubo de ensaye que contenía 9ml del diluyente estéril (solución salina fisiológica) , evitando contacto entre el diluyente y la pipeta, se agita la muestra con 25 movimientos de arriba abajo, en un arco de 30º, efectuados en un tiempo de 7 s. Las diluciones siguientes se realizan como se muestra a continuación Figura 28.

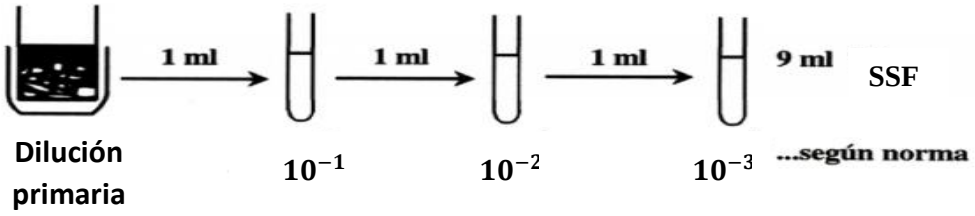

Figura 28. Diluciones seriadas decimales

2.8.7 Siembra en superficie

Después de la prueba de esterilidad se procedió a dividir en 3 partes la base de la caja con ayuda de un marcador permanente, se marcaron dos cajas donde cada tercio corresponde a una dilución, 0 (dilución primaria),1 (10^{-1}), 2 (10^{-2}), 3 (10^{-3}), 5 (10^{-4}), se colocaron tres gotas de 20 µl en la dilución correspondiente (Figura 29), se dejó reposar unos minutos con la tapa abierta hasta que se secaron las gotas y se invirtió e incubó la caja bajo las

condiciones descritas en la NOM-092-SSA1-1994 para mesófilas aerobias y en la NOM-113-SSA-1994 para coliformes totales.

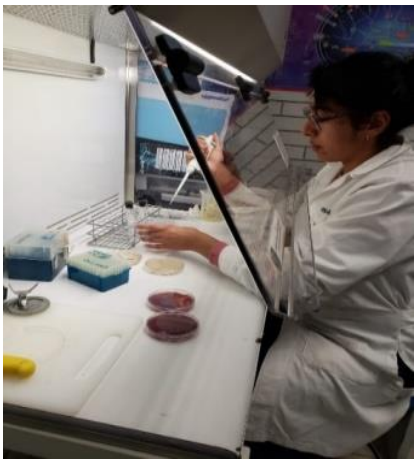

Figura 29. Siembra en superficie en campana de flujo laminar

2.8.8 Conteo de microorganismos

Se utilizó un contador de colonias, se cuentas las cajas que tengan entre 25-250 para el caso de bacterias mesófilas aerobias Figura 31 y de 15-150 para bacterias coliformes totales. Figura 30.

Ya que se seleccionaron las cajas, se calculó el promedio por dilución, se aplicó el factor de dilución que es el inverso de la dilución y se redondeó a 2 cifras en potencia de 10 de acuerdo con la NOM-092-SSA1-1994.

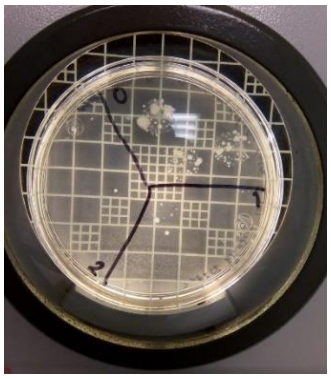

Figura 31. Mesófilas aerobias

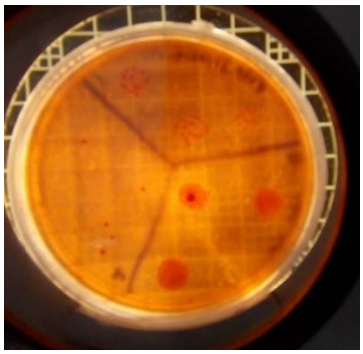

Figura 30. Coliformes totales

2.8.9 Tinción de Gram

Se seleccionaron las cajas Petri con colonias diferentes entre sí, para realizar la tinción de Gram. Con un asa se tomó una impronta de cada colonia y se colocó en una gota de agua destilada estéril sobre un portaobjetos y se fijó a la flama. Se procedió a teñir con una solución de cristal violeta, se cubrió y se dejó reposar durante 60 s, se enjuagó con agua destilada, posteriormente se aplica aplicó el mordente (solución de yodo), durante 60 s, se enjuagó con agua destilada, se adicionó el decolorante (alcohol-cetona), durante 10 s, y se lavó con agua destilada y finalmente se adicionó una solución de safranina durante 60 s, se enjuagó con agua destilada, se dejó secar el portaobjetos y por último, se observó al microscopio óptico marca Olympus con el ocular 100X, con la finalidad de identificar forma de bacterias y clasificación (gram-positivos y gram-negativos), de microorganismos presentes en la carne.

2.9 Evaluación del pH de la carne

Se realizó con ayuda de un potenciómetro digital Orion Five Star Figura 32, los electrodos fueron calibrados con 3 soluciones buffer, con pH de 4, 7 y 10.

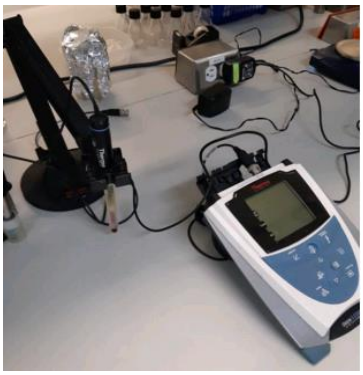

Figura 32. Potenciómetro Orion Five Star

Se utilizó el método indicado en la NMX-F-317-NORMEX-2013, según el 981.12 del AOAC, 2010, donde 10g de muestra se licuaron con 90 mL de agua destilada y se filtraron, el filtrado se recolectó en un vaso de precipitados y ahí se introdujo el electrodo. En seguida se registraron las lecturas, el proceso de filtración se realizó bajo temperatura de refrigeración (4ºC).

2.10Determinación de CRA

Fue determinada con el método utilizado por Guerrero, et al. (2002), empleando una centrífuga Centurion Scientifica Ltd modelo K2015R (Reino Unido), (Figura 33).

Se utilizaron 5 gramos de muestra que se picaron finamente, y posteriormente se mezclaron con 8mL de solución de NaCl a 4°C, con ayuda del Vortex Mixer MaxiMix (M337615), durante 15s, después se sometieron las muestras a un baño de hielo durante 30 min y en seguida se centrifugaron durante 30 min a 5000rpm. Se realizaron 4 repeticiones por duplicado.

Para calcular el % de CRA se empleó la siguiente ecuación:

$$\%CRA = \frac{Va - Vs}{peso\ de\ la\ muestra} * 100$$

Dónde:

$$Va = volumen\ de\ solución\ salina\ añadido\ (mL)$$

$$Vs = volumen\ de\ sobrenadante\ (mL)$$

Figura 33. Centrífuga Centurion Scientific Ltd K2015R

2.11Diseño experimental

Se trabajó bajo el esquema de un diseño completamente al azar. Se elaboraron cuatro lotes diferentes, y se llevaron a cabo tres repeticiones para cada una de las muestras tratadas incluyendo al control, además cada determinación igualmente se realizó por triplicado.

Los resultados obtenidos del conteo de UFC/g y parámetros fisicoquímicas, propiedades funcionales y tiempos de almacenamiento en refrigeración se almacenaron en el programa estadístico Minitab versión 16 mediante un análisis de varianza ANOVA de dos vías, con el diseño de bloques completamente al azar. Se realizo una análisis de medias mediante la prueba Tukey para la comparación entre tratamientos. Se establecieron las siguientes hipótesis:

BLOQUES	TRATAMIENTOS (LOTES)
Ho: $\mu_o = \mu_7 = \mu_{14} = \mu_{21}$	Ho: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$
H_1: no todas las medias son iguales.	H_1: no todas las medias son iguales.

CAPÍTULO 3

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este apartado se muestran los resultados obtenidos en términos de presencia de mesófilos aerobios incubados durante 48h, coliformes totales incubados durante 24h, pH y capacidad de retención de agua (CRA), de diferentes lotes evaluados a los días 2, 7 y 14 días, la simbología para la identificación de cada lote es la siguiente, se muestra en el cuadro 5.

Cuadro 5. Simbología de lotes

Lote 1- **Control, EV,R.**	**Envasado al vacío y refrigerada**
Lote 2: **LaC, EV y R.**	Adicionada de lactato de calcio, envasada al vacío y refrigerada.
Lote 3: **EV, US, y R.**	Envasada al vacío,ultrasonicada, y refrigerada.
Lote 4: **LaC, US, EV y R.**	Adicionada con lactato de calcio, envasada al vacío ultrasonicada, y refrigerada.

En el cuadro 6 se muestran los resultados obtenidos de pH, Capacidad de retención de agua, mesófilos aerobios, coliformes totales a los 2, 7 y 14 días de almacenamiento.

Cuadro 6. Resultados obtenidos durante la experimentación de pH en emulsión, CRA, Mesofilos aerobios y coliformes totales

	Días de almacenamiento	pH en emulsión	CRA	Mesofiolos aerobios [logUFC/g]	Coliformes Totales [log UFC/g]
Materia Prima	1h despúes de sacrificio	6.554	0	2	Ausencia
EV, R	2	6.176	20	3	Ausencia
	7	6.062	17.5	1	Ausencia
	14	6.051	10.6	4	1
LaC, EV, R	2	6.14	20	1	Ausencia
	7	6.095	20	2	Ausencia
	14	6.239	28	2	Ausencia
US,EV,R	2	6.21	20	2	Ausencia
	7	5.871	20.67	2	2
	14	6.145	18.33	2	Ausencia
LaC,US,EV,R	2	6.131	18.33	1	Ausencia
	7	6.236	24	2	Ausencia
	14	6.293	33	2	Ausencia

3.1 Resultados de microbiología

En el cuadro 7 se muestra el promedio de las log UFC/g de coliformes totales.

Cuadro 7 Resultados de log UFC/g de coliformes totales contabilizadas a las 24h

Día	Muestra	log UFC/g
Materia prima		Ausencia[a]
2	lote 1	Ausencia
7		Ausencia
14		1
2	lote 2	Ausencia
7		Ausencia
14		Ausencia
2	lote 3	Ausencia
7		2
14		Ausencia
2	lote 4	Ausencia
7		Ausencia
14		Ausencia

[a] Coliformes totales de la materia prima 1 h después de la matanza

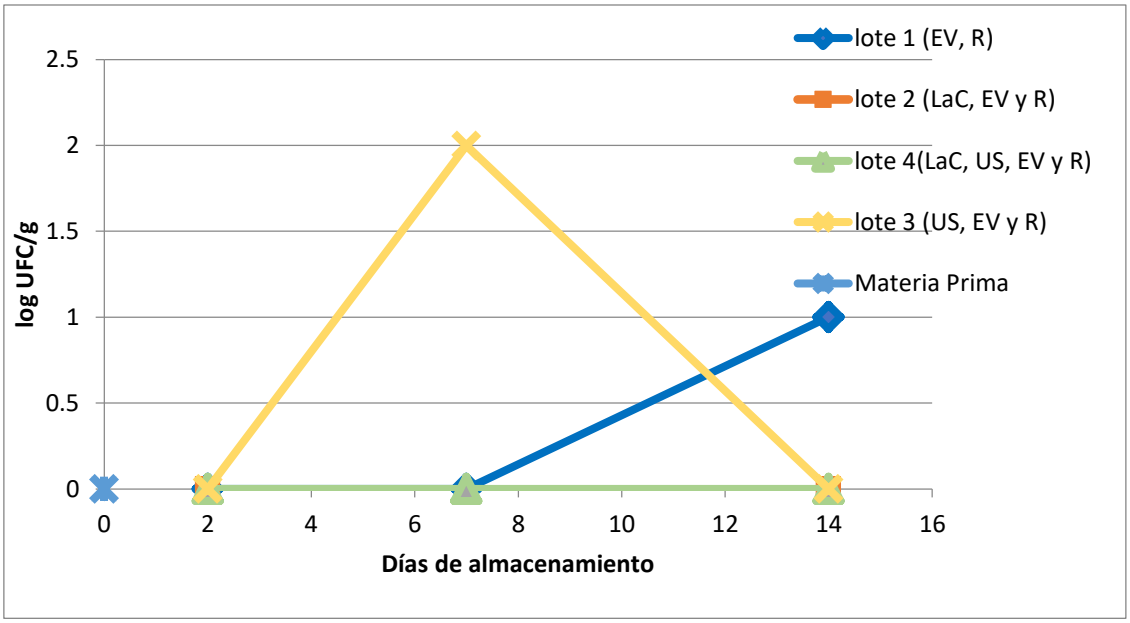

Figura 34. Gráfico de tendencia de las log UFC/g de coliformes totales de materia prima y lotes

En la Figura 34 se muestran los resultados en log UFC/g obtenidos de coliformes totales a las 24h.

Se puede apreciar que en los 4 tratamientos, incluyendo el control (envasado al vacío y refrigerado) el resultado a los 2 días de almacenamiento fue la ausencia de log UFC/g. Lo que significaun manejo apropiado de la materia prima durante el sacrificio y que el envasado al vacío y la refrigeración a 4°C fueron suficientes para controlar la calidad microbiológica inicial de la materia prima que se analizó en la primera hora posterior de la matanza y que presentó ausencia de de coliformes totales.

A los 7 días de almacenamiento, los lotes 1 (envasado al vacío y refrigerado), 2 (lactato de calcio, envasado al vacío y refrigerado) y 4 (lactato de calcio, envasado al vacío, ultrasonido y refrigeración), ausencia de coliformes totales , por lo que durante la primera semana, las barreras debidas a la solución de lactato de calcio al 3%, el envasado al vacío y la refrigeración lograron controlar la calidad microbiológica de la carne de conejo.

El lote 3 (ultrasonicación de alta intensidad, en vasado al vacío y refrigeración), donde se aplicaron 10 min de ultrasonido de alta intensidad en combinación con envasado al vacío y refrigeración, presentó 2 log UFC/g a los 7 días de almacenamiento, por lo que se puede considerar que la cavitación del ultrasonido en la superficie del tren posterior de conejo permitió el desarrollo de las pocas células de coliformes totales por la exposición de nutrientes de las carne. Nutrientes que se agotaron para los 14 días de almacenamiento, pues el conteo de log UFC/g disminuyó hasta la ausencia de nueva cuenta.

A los 14 días de almacenamiento los lotes 2 y 4 también presentaron ausencia de log UFC/g, lotes que se trataron con la solución de lactato de calcio, envasado al vacío y refrigeración, y el lote 4 se complementó con la aplicación del ultrasonido de alta intensidad. Para éstos 2 casos específicos, el tratamiento con lactato de calcio se puede considerar como el que tuvo mayor impacto para conservar la calidad microbiológica del tren posterior de conejo, por el efecto bacteriostático de ésta sal de calcio.

En contraste con el lote 1 control, tratado con envasado al vacío y refrigeración, que a los 14 días de almacenamiento presentó 1 log UFC/g , lo que significó que esas barreras ya no fueron suficientes para controlar la Microbiota del tren posterior de conejo pues permitieron el desarrollo de microorganismos coliformes, y solo funcionaron hasta los 7 días

Cuadro 8. Resultados de log UFC/g mesófilos aerobios contabilizadas a las 48h

Día	Muestra	log UFC/g
Materia prima		2
2	lote 1	3
7		1
14		4
2	lote 2	1
7		2
14		2
2	lote 3	2
7		2
14		2
2	lote 4	1
7		2
14		2

[a] Mesofilos aerobios de materia prima 1 h después de la matanza

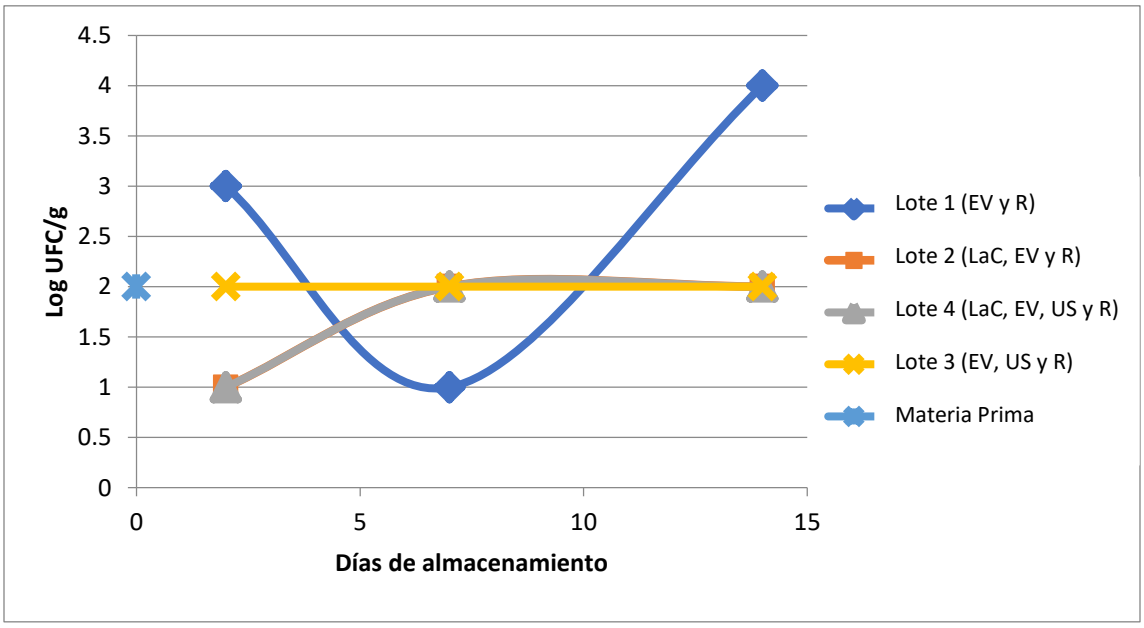

Figura 35. Gráfico de log UFC/g de mesófilos aerobios en materia prima y lotes

En la Figura 35 se presentan los resultados obtenidos para el conteo de microorganismos mesófilos aerobios a las 48h.

Al día 2 de almacenamiento, se pudo observar que los lotes 2 y 4 tratados con lactato de calcio, envasado al vacío y refrigeración, además de ultrasonido de alta intensidad para el lote 4, fueron la combinación de barreras que mejor controlaron y disminuyeron hasta 1 log UFC/g la carga microbiana inicial de la materia prima, ya que al ser analizada 1h después de la matanza, el resultado fue de 2 log UFC/g.

El lote 3 que fue sometido a envasado al vacío, ultrasonido de alta intensidad y refrigeración permaneció con la misma carga microbiana de 2 log UFC/g, lo que indicó que el ultrasonido de alta intensidad permitió la supervivencia de los microorganismos.

El lote 1 control, cuyas barreras únicamente fueron envasado al vacío y refrigeración, presentaron 3 log UFC/g lo que fue 1 log más alto que la carga inicial de la materia prima e indicó que los microorganismos mesófilos aerobios se adaptaron al medio durante los 2 primeros días de almacenamiento y se lograron desarrollar.

A los 7 días de almacenamiento los lotes 2, 3 y 4 presentaron 2 log UFC/g. El lote 3 donde se combinó el envasado al vacío con ultrasonido de alta intensidad y refrigeración permaneció constante desde el día 2. Para los lotes 2 y 4 ya hubo una adaptación de los microorganismos y reproducción de los mismos pues aumentaron 1 log UFC/g del día 2 al día 7.

En el lote 1, Control disminuyó de 3 log UFC/g hasta 1 durante los 7 días de almacenamiento, debido a la combinación de envasado al vacío y refrigeración, que provocó la disminución de microorganismos aerobios iniciales, sin embargo, las reacciones autolíticas y autodegradativas de la propia carne, aunada a la microbiota sobreviviente, para el día 14 de almacenamiento, indicaba que la calidad del tren posterior de conejo ya era deficiente y ya no era seguro consumirla.

El conteo de microorganismos mesófilos aerobios en los lotes 2, 3 y 4 permaneció constante en 2 log UFC/g durante los 14 días de almacenamiento, lo que indica que la combinación de lactato de calcio, envasado al vacío, ultrasonido de alta intensidad y refrigeración fue capaz de reducir la microbiota de origen y controlar durante 14 días la calidad microbiológica del tren posterior de conejo. En donde, la combinación de la aplicación de lactato de calcio, envasado al vacío y refrigeración que son las barreras que ambos lotes, 2 y 4, tienen en común, resultaron durante todo el almacenamiento, fueron capaces de mantenerla a los 2 días de almacenamiento, , y ser las más aptas para mantener una buena calidad microbiológica en el tren posterior de conejo, permitiendo únicamente el desarrollo de especies gram positivas, anaerobias facultativas y psicrótrofas.

Cuadro 9. Análisis de varianza para coliformes totales

Factor	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Valor de P
Lote	3	0.9167	0.3056	0.65	0.613
Días de almacenamiento	2	0.5000	0.2500	0.53	0.614
Error	6	2.8333	0.4722		
Total	11	4.2500			

Los valores del análisis estadístico para coliformes totales (Cuadro 9) indicaron que no existen diferencian significativas (P>0.05). Lo que demuestra que tanto los diferentes tratamientos de cada lote como los días de almacenamiento no influyen en el desarrollo de microorganismos coliformes totales.A continuación se presenta una prueba estadística de Tukey de las medias obtenidas del análisis para coliformes totales, en el cuadro 10 y cuadro 11, para días de almacenamiento y lotes respectivamente.

Cuadro 10. Resultados de la prueba de Tukey para el conteo de m.o. coliformes totales con respecto a los días de almacenamiento

Días de almacenamiento	N	Media	Agrupación
2	4	0.5	A
14	4	0.25	A
7	4	0	A
0	3	0	A

Cuadro 11. Resultados de la prueba de Tukey para el conteo de m.o. coliformes totales con respecto a los lotes y tratamientos

Lote	N	Media	Agrupación
3	3	0.667	A
1	3	0.333	A
4	3	0	A
2	3	0	A
0	3	0	A

De acuerdo con los cuadros 10 y 11, la prueba Tukey agrupó con letras iguales a los lotes y días de almacenamiento por lo que se puede inferir que no existen diferencias significativas entre el conteo de microorganimos coliformes totales en la materia prima y el control con respecto a los conteos obtenidos en el tren posterior de conejo, sometidos a los diferentes tratamientos y tiempos de almacenamiento.

Cuadro 12. Análisis de varianza para mesófilos aerobios

Factor	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Valor de P
Lote	3	2.0	0.6667	0.89	0.499
Días de almacenamiento	2	1.5	0.7500	1.00	0.422
Error	6	4.5	0.7500		
Total	11	8			

Los valores del análisis de varianza (Cuadro 12) para mesófilos aerobios indican que no existe diferencia significativa (P>0.05). Lo que demuestra que tanto los diferentes tratamientos de cada lote como los días de almacenamiento, no influyen en la cuenta de microorganismos mesófilos aerobios, lo que se confirma con los resultados de la prueba de Tukey que se presenta en los cuadros 13 y 14.

Cuadro 13. Prueba de Tukey del conteo de m.o. mesófilos aerobios con respecto a los días de almacenamiento

Días de almacenamiento	N	Media	Agrupación
2	12	1.583	A
14	12	1.417	A
0	3	1.333	A
7	12	1.167	A

Cuadro 14. Prueba de Tukey del conteo de m.o. mesófilos aerobios con respecto a los lotes y tratamientos aplicados

Lote	N	Media	Agrupación
4	9	1.778	A
3	9	1.667	A
0	3	1.333	A
1	9	1.111	A
2	9	1	A

De acuerdo con el Cuadro 14 se puede inferir que no existen diferencias significativas entre el conteo de microorganimos mesófilos aerobios, en la materia prima y el contro,l con respecto de los conteos obtenidos en el tren posterior de conejo sometido a los diferentes tratamientos.

3.1.1 Resultados de tinción de gram

De la evaluación microbiológica realizada a la materia prima y a los diferentes lotes y días de almacenamiento, se tomaron muestras de las colonias obtenidas de cada medio de cultivo, agar cuenta estándar y agar bilis-rojo violeta, resultados que se presentan a continuación.

Los resultados de materia prima indicaron la presencia de microorganismos tanto gram positivos como gram negativos en el agar cuenta estándar (Figura 36 (A), y (B) respectivamente), y en el caso de coliformes totales en placa se obtuvieron bacterias gram negativas en el agar rojo bilis violeta. (Figura 36 (C)).

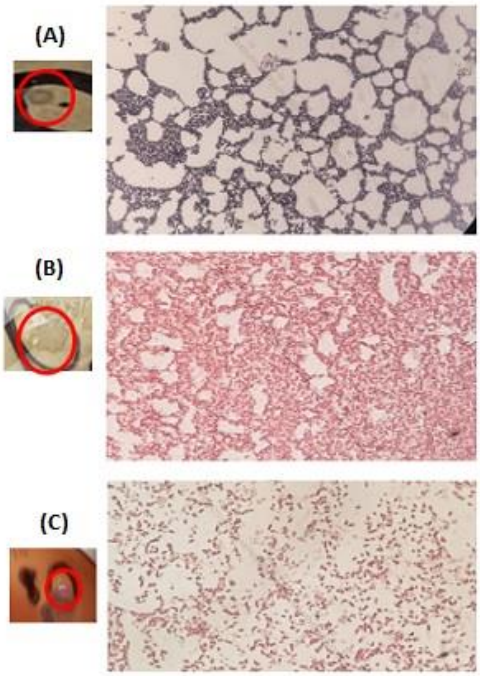

Figura 36. Tinción de Gram en microorganismos obtenidos de la materia prima

En Agar cuenta estándar: (A) Colonia cremosa, blanca, ovalada de 1 mm de diámetro, al microscopio óptico (MO): cocos gram positivos de 1 µm.(B) Colonia cremosa blanca redonda ondulada de 2-3 mm , cocos gram negativos de 1-2 µm. (C) En Agar Bilis Rojo Violeta Colonias rojas, cremosas y redondas, de 2mm, al microscopio óptico (MO): cocos gram negativos de 1-2 µm.con cocos gram negativos

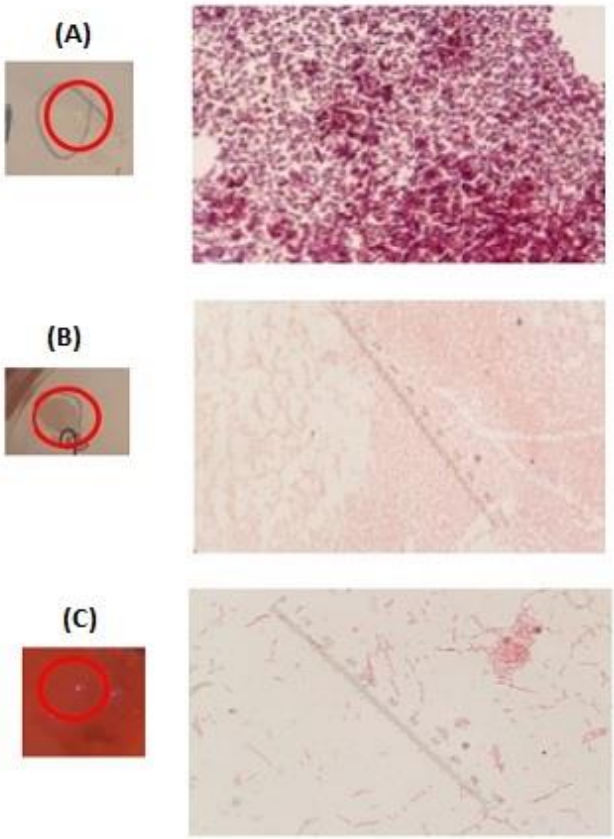

Figura 37. Tinción de Gram en microorganismos obtenidos del Lote 1 (Control) tras 14 días de almacenamiento

En Agar cuenta estándar (A) Colonia, amarilla, cremosa, redonda y pequeña y (B)Colonia, blanca, cremosa y redonda; aisladas en Agar cuenta estándar. (C) Colonias rojas cremosas y pequeñas aisladas en Agar Rojo Violeta Bilis.

Al igual que en la materia prima, se puede observar que se desarrollaron bacterias gram negativas y gram positivas en el agar cuenta estándar, y que en el Agar Rojo Bilis Violeta se presentaron únicamente bacterias gram negativas. Lo que indica que el envasado al vacío en combinación con la refrigeración no tuvieron efecto alguno sobre los microorganismos gram negativos en todo el tiempo de almacenamiento, pues fueron capaces de desarrollarse a los 14 días de almacenamiento.

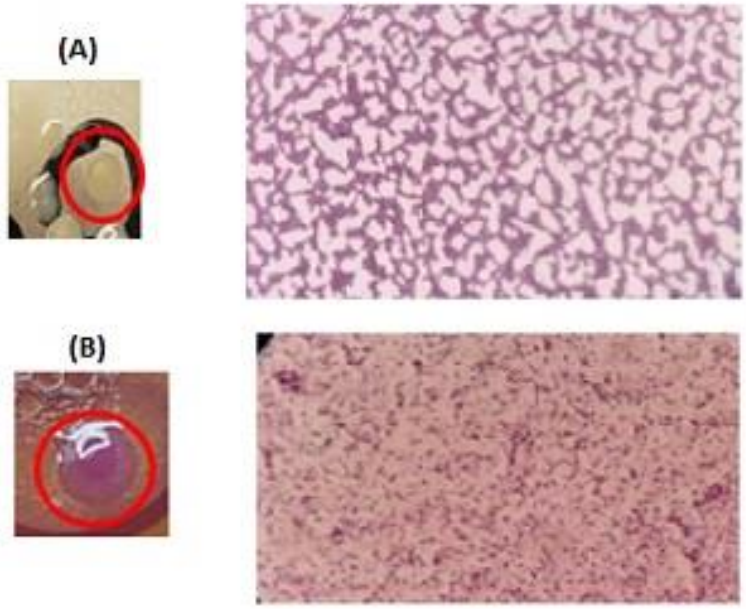

Figura 38. Tinción de Gram en microorganismos obtenidos del Lote 2

(A) Colonias, blancas, cremosas redondas aisladas en Agar cuenta estándar. (B) Colonias rojas cremosas; aisladas en Agar Rojo Bilis Violeta

Los resultados del lote 2 son relevantes pues de acuerdo a lo que se observa en la Figura 38, tanto las colonias obtenidas del Agar cuenta estándar como las del Agar rojo violeta bilis, indicaron únicamente la presencia de microorganismos gram positivos. Lo anterior revela que la aspersión de la solución de lactato de calcio tuvo un efecto de control sobre los microorganismos gram negativos que estaban presentes en la materia prima, aunado a la combinación del envasado al vacío y la refrigeración.

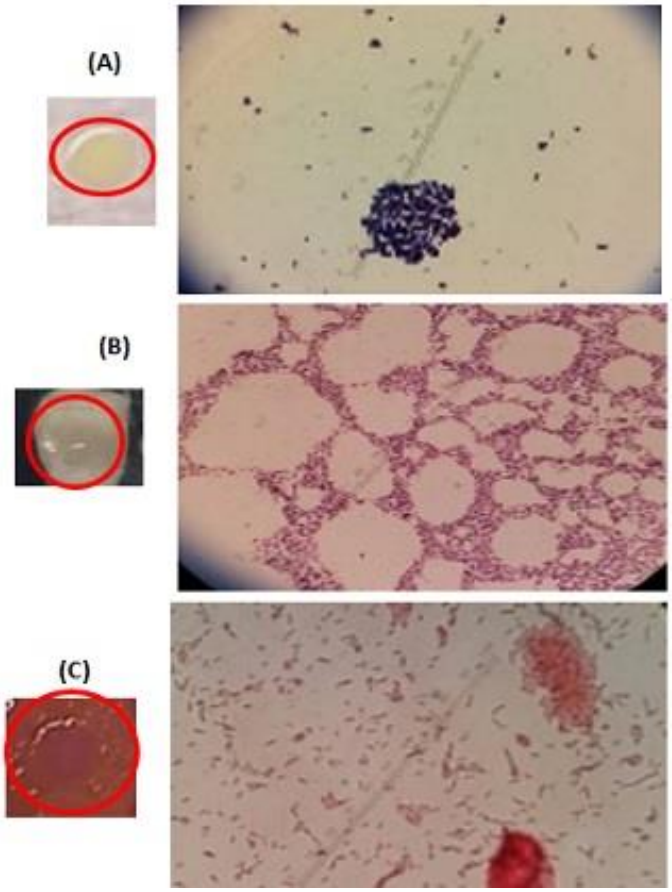

Figura 39. Tinción de Gram en microorganismos obtenidos del lote 3

(A) y (B). Colonias cremosas redondas aisladas en agar cuenta estándar. (C) Colonias rojas cremosas aisladas en Agar Rojo Bilis Violeta

El lote 3 que permaneció con un conteo constante de microorganismos mesófilos aerobios durante los 14 días de almacenamiento, los cuales fueron gram positivos como lo muestra la Figura 39 (A) y (B). Con eso se demuestra que el ultrasonido de alta intensidad fue capaz de controlar a las bacterias gram negativas presentes en la materia prima. Sin embargo no se eliminaron, pues en el agar rojo violeta bilis, aún se encontraron bacterias gram negativas sobrevivientes.

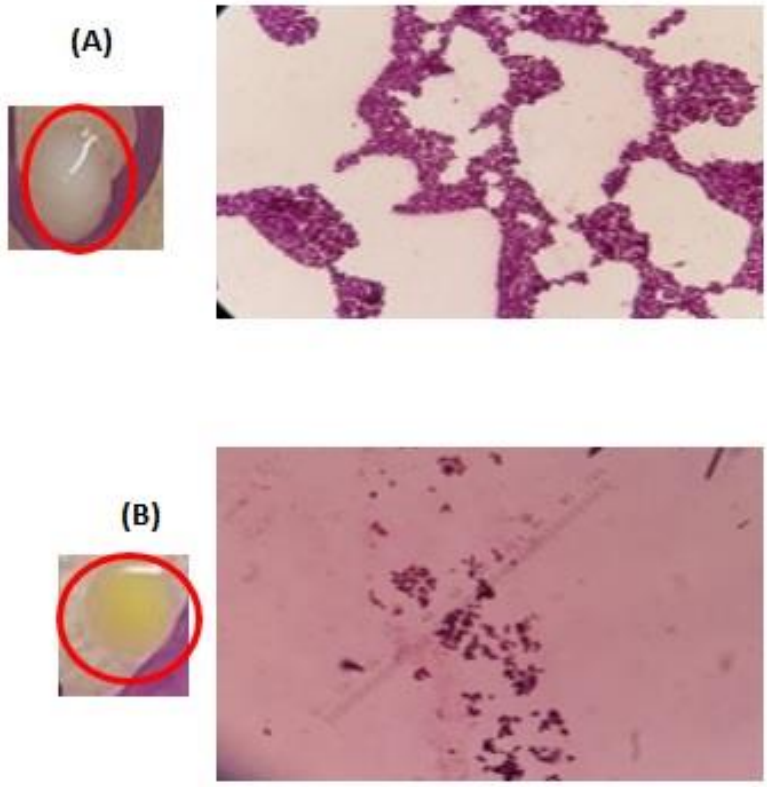

Figura 40. Tinción de Gram en microorganismos obtenidos del lote 4 al día 14

(A)Colonia redonda blanca y cremosa, (B)Colonia redonda amarilla y cremosa aisladas en Agar cuenta estándar

Como se presenta en la Figura 40, el lote 4 a los 14 días de almacenamiento, presentó únicamente bacterias gram positivas, lo que indicó que existió un control de los microorganimos gram negativos con la aplicación del ultrasonido de alta intensidad a las 48 h. Sin embargo, cabe destacar que en este lote, previo a la USque a los 2 días fue posible identificar células viables de microorganimos gram negativos en el agar cuenta estándar.

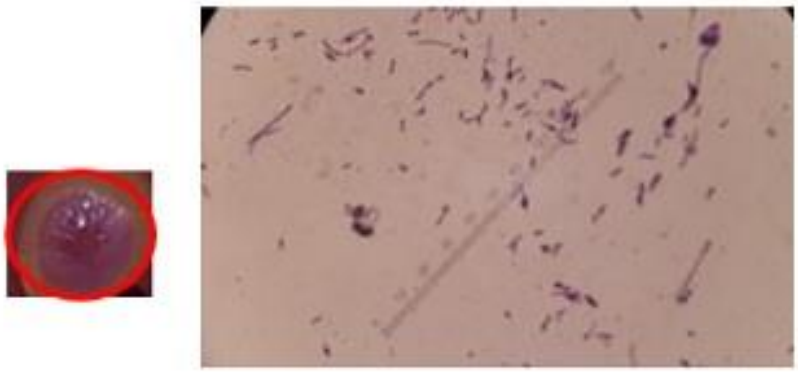

Figura 41. Tinción de Gram en microorganismos obtenidos del Lote 4 al día 14

Colonia roja cremosa y redonda aislada en Agar Rojo Violeta Bilis

Igual resultado para el conteo en el agar rojo violeta bilis, pues de los 2 a los 7 días de almacenamiento se encontraron bacterias tanto gram positivas como gram negativas, sin embargo, para el final de la evaluación, es decir, a los 14 días, se encontraron únicamente baterías gram positivas. Efecto que puede atribuirse al control que ejerció la combinación de la solución de lactato de calcio con el ultrasonido de alta intensidad, pues el ultrasonido por si solo, para los 14 días de almacenamiento aún permitió el desarrollo de m.o. gram negativos.

De lo anterior se puede resaltar el hecho de que predominan en el lote experimental cocos Gram positivos, que podrían asociarse a la presencia de bacterias acido lácticas,

3.2 Resultados de pH

Se realiazaron dos medidas de pH, con el electrodo superficial y el electrodo para pH de inmersión, de acuerdo el menor coeficiente de variación se eligió medir el pH con el electrodo de inmersión, y los resultados se muestran en el cuadro 15 se muestran los datos estadísticos del pH con electrodo de inmersión, se realizó 3 repeticiones por cada día, con 4 réplicas cada repetición.

Cuadro 15. Datos estadísticos de las muestras de pH con electrodo de inmersión

Lote	Días de almac.	Repeticiones	Réplicas				$\bar{x}$	D.S	C.V
Materia Prima	0	1	6.69	6.43	6.48	6.54	6.535	0.113	1.724
		2	6.55	6.59	6.56	6.49	6.547	0.042	0.640
		3	6.44	6.41	6.34	6.48	6.580	0.059	0.90
Lote 1 control	2	1	5.59	6.26	6.46	6.46	6.103	0.456	7.466
		2	6.28	6.27	6.25	6.26	6.265	0.013	0.206
		3	6.16	6.13	6.16	6.12	6.143	0.021	0.34
	7	1	6.06	6.1	6.01	5.64	5.953	0.212	3.554
		2	6.07	6.19	5.58	5.92	5.94	0.264	4.448
		3	6.3	6.29	6.29	6.29	6.293	0.005	0.08
	14	1	5.97	6.01	6.03	6.04	6.013	0.031	0.515
		2	6.07	6.06	6.19	6.14	6.115	0.061	1.004
		3	6.02	6.01	5.98	6.09	6.025	0.047	0.77
Lote 2	2	1	6.16	6.15	6.18	6.18	6.168	0.015	0.243
		2	6.12	6.11	6.12	6.11	6.115	0.006	0.094
		3	6.14	6.14	6.14	6.13	6.138	0.005	0.081
	7	1	6.13	6.15	6.12	6.12	6.130	0.014	0.231
		2	6.04	6.06	6.02	6.05	6.0425	0.017	0.283
		3	6.12	6.1	6.13	6.1	6.113	0.015	0.25
	14	1	6.25	6.19	6.25	6.25	6.235	0.030	0.481
		2	6.21	6.27	6.26	6.25	6.2475	0.026	0.421
		3	6.25	6.27	6.18	6.23	6.233	0.039	0.62
Lote 3	2	1	6.07	6.1	6.17	6.1	6.11	0.042	0.694
		2	5.99	6.15	6.24	6.29	6.17	0.132	2.136
		3	6.51	6.31	6.26	6.34	6.355	0.108	1.71
	7	1	5.86	5.88	5.99	5.97	5.925	0.065	1.089
		2	5.64	5.77	5.81	5.9	5.78	0.108	1.869
		3	5.92	5.91	5.9	5.9	5.908	0.010	0.16
	14	1	6.15	6.13	6.18	6.16	6.155	0.021	0.338
		2	6.16	6.14	6.23	6.17	6.175	0.039	0.627
		3	6.21	6.17	5.99	6.05	6.105	0.102	1.68
Lote 4	2	1	6.14	6.04	6.04	6.05	6.068	0.049	0.800
		2	6.18	6.15	6.11	6.09	6.1325	0.040	0.657
		3	6.22	6.2	6.18	6.17	6.193	0.022	0.36
	7	1	6.19	6.18	6.23	6.24	6.210	0.029	0.474
		2	6.32	6.29	6.21	6.27	6.27	0.046	0.741
		3	6.23	6.25	6.22	6.22	6.230	0.014	0.23
	14	1	6.35	6.38	6.4	6.34	6.368	0.028	0.432
		2	6.37	6.29	6.35	6.31	6.33	0.037	0.577
		3	6.18	6.16	6.18	6.2	6.180	0.016	0.26

En el cuadro 16 se muestran los datos estadísticos del promedio de las réplicas, así como los valores estadísticos de promedio, desviación estándar y coeficiente de variación.

Cuadro 16. Datos estadísticos del promedio de las repeticiones de pH con electrodo de inmersión

Lote	Días de almac.	Repeticiones	$\bar{x}$ de replicas	Promedio final	D.S	C.V
Materia Prima	0	1	6.535	6.554	0.023	0.356
		2	6.547			
		3	6.580			
Lote 1 control	2	1	6.103	6.170	0.084	1.368
		2	6.265			
		3	6.143			
	7	1	5.953	6.062	0.200	3.302
		2	5.94			
		3	6.293			
	14	1	6.013	6.051	0.056	0.921
		2	6.115			
		3	6.025			
Lote 2	2	1	6.168	6.140	0.027	0.433
		2	6.115			
		3	6.138			
	7	1	6.130	6.095	0.046	0.761
		2	6.0425			
		3	6.113			
	14	1	6.235	6.239	0.008	0.131
		2	6.248			
		3	6.233			
Lote 3	2	1	6.11	6.210	0.125	2.011
		2	6.17			
		3	6.35			
	7	1	5.925	5.871	0.079	1.350
		2	5.78			
		3	5.908			
	14	1	6.013	6.051	0.056	0.921
		2	6.115			
		3	6.025			
Lote 4	2	1	6.068	6.131	0.063	1.020
		2	6.1325			
		3	6.193			
	7	1	6.21	6.237	0.031	0.490
		2	6.27			
		3	6.23			
	14	1	6.37	6.293	0.100	1.592
		2	6.33			
		3	6.18			

En el cuadro 17 se muestra el promedio de las repeticiones realizadas del pH clasificados por lote y por día de almacenamiento.

Cuadro 17. Promedio de repeticiones de pH

Días de almac. / Lote	2días	7días	14 días
Materia prima	6.483[a]		
Lote 1, control: EV, R	6.176	6.062	6.051
Lote 2: LaC, EV, R	6.14	6.095	6.239
Lote 3: EV, US y R	6.210	5.871	6.051
Lote 4: LaC, EV, US, yR	6.131	6.237	6.293

[a] Medición de pH de materia prima 1h después de la matanza

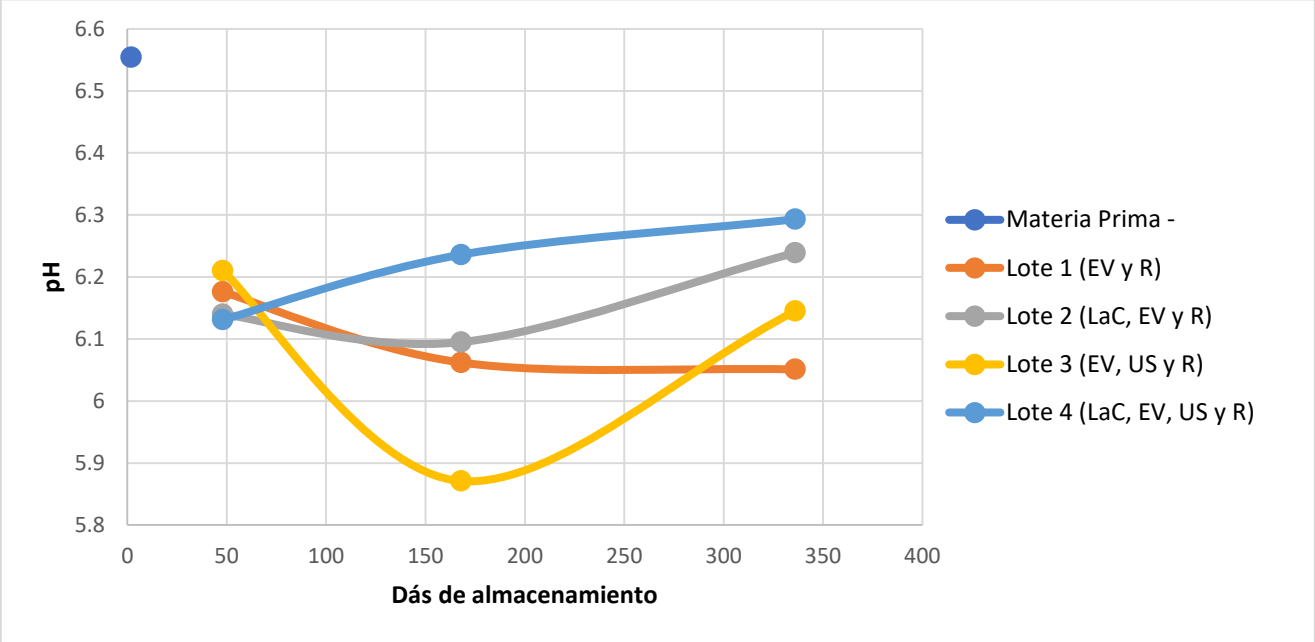

Figura 42. Gráfico de pH

En la Figura 45 se muestra la tendencia del pH ,el pH inicial de la materia prima medido a la 1h después de sacrificio fue de 6.483, posteriormente ocurren cambios post mortem, debido al agotamiento de ATP, generando un descenso de pH, como se aprecia en la figura 45 descendiendo el pH entre (6.13 y 6.21) .

El pH para los lotes 1, y 3 descendente para el día 7 y 14 y para el lote 2 y 4 es ascendente en el día 7 y 14, por lo que se le atribuye el comportamiento a la formación de radicales colapsando las burbujas generadas por el mecanismo de cavitación que implica el

ultrasonido, los radicales interactúan con las moléculas disulfuro de las proteínas, lo que genera un aumento en el pH (Kumar, R., & Kentish, S., 2009).

En el cuadro 18 se muestra un ANOVA de dos factores (Lote y días de almacenamiento), para pH en emulsión con un nivel de significancia del 0.05.

Cuadro 18. Análisis de varianza de pH

Factor	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Valor de P
Lote	3	0.456	0.159	11.47	0.000
Días de almacenamiento	2	0.374	0.187	14.14	0.000
Interacción	6	0.81	0.135	10.18	0.000
Error	131	1.734	0.013		
Total	142	3.377			

Los valores del análisis estadístico para pH indican que si existe diferencia significativas ($P<0.05$), Lo que demuestra que tanto los diferentes tratamientos de cada lote como los días de almacenamiento y su interacción influyen en el pH de la carne.

Con respecto a la gráfica de cajas (Figura 46), se aprecia que tienen diferente amplitud, lo que indica una amplia dispersión de los datos obtenidos de pH con respecto a la media de cada día de almacenamiento.

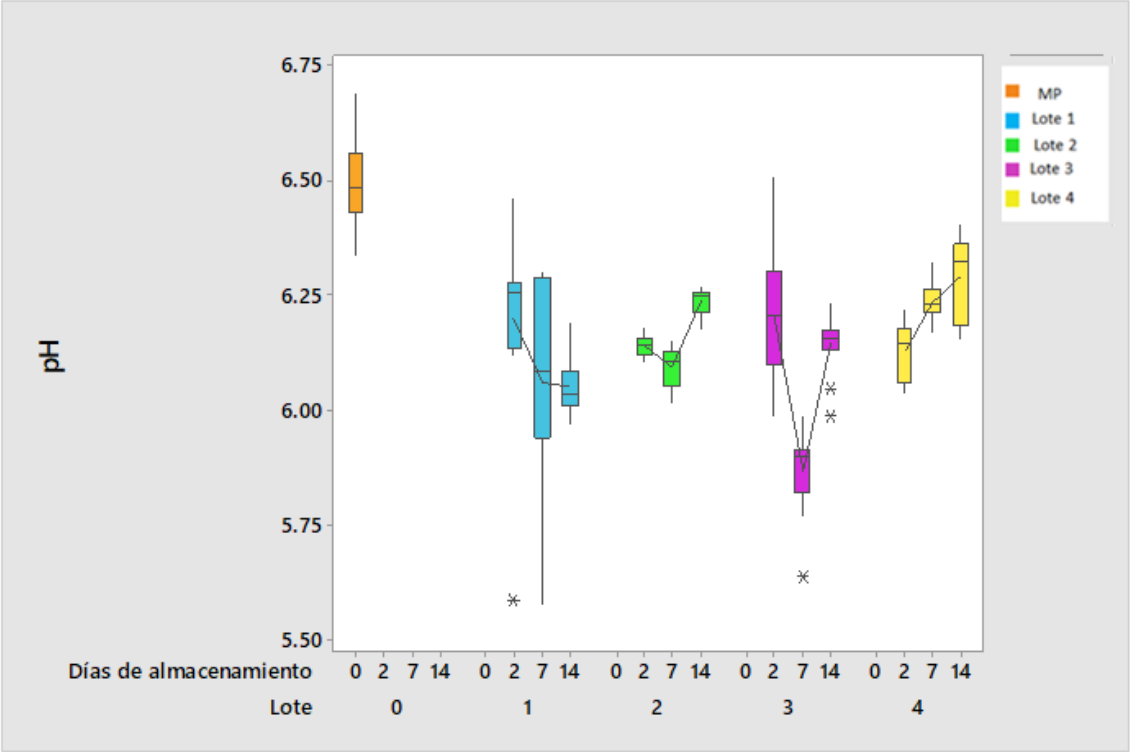

Figura 43. Gráfico de cajas de pH

Por otro lado, se sabe que otro factor que influye en el hecho de que no exista una diferencia significativa entre los diferentes lotes, puesto que todos poseen esta variable, es el envasado al vacío. (Rodríguez- Calleja, J. M, et. al 2010) reportan que la atmósfera de envasado si afecta significativamente los valores de pH y Microbiota, ya que en ausencia de oxígeno se van a afectar en primera instancia a los microorganismos aerobios. Para el envasado al vacío de carne de conejo obtuvieron pH de 6.3 a 6.4 como máximo al día 0 y al día 14, lo que indica una estabilización, que podría ocurrir en el presente proyecto, debido a la combinación de barreras.

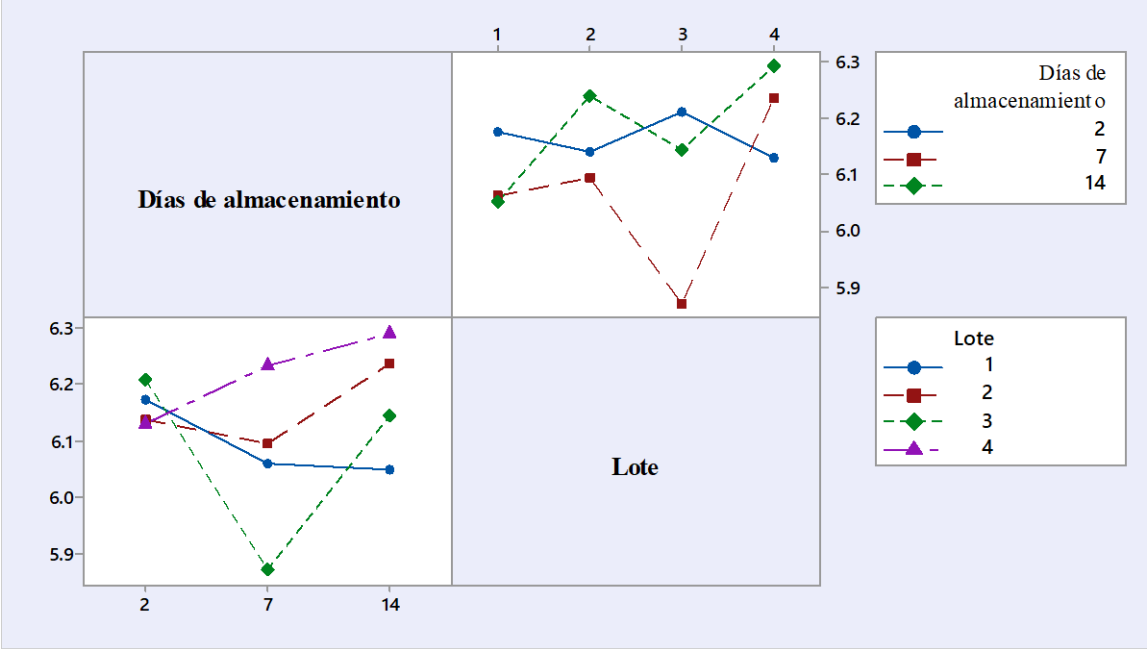

Figura 44. Gráfico de interacción de pH

En la Figura 47 se puede observar por la intersección de las líneas, que existe una interacción entre el valor de pH y los días de almacenamiento por lo que los valores resultantes dependen de los tratamientos aplicados y también entre los valores de pH y los tratamientos aplicados, que dependen del tiempo de almacenamiento.

Cuadro 19. Resultados de la prueba de Tukey para pH con respecto a los días de almacenamiento

Días de almacenamiento	N	Media	Agrupación
0	12	6.5	A
14	48	6.1817	B
2	48	6.1704	B
7	48	6.0658	C

Cuadro 20. Resultados de la prueba de Tukey para pH con respecto a los lotes o tratamientos aplicados

Lote	N	Media	Agrupación
0	12	6.5	A
4	36	6.2197	B
2	36	6.1578	B C
1	36	6.1042	C
3	36	6.0756	C

De acuerdo con el cuadro 20, se puede apreciar que la materia prima tiene un pH diferente al obtenido con todos los tratamientos aplicados (Lotes 1,2,3,4). También se logra observar que los tratamientos que no presentaron pH con diferencias significativas entre sí fueron los de los lotes 1(EV, R), 2(LaC, EV, R) y 3(EV, US, y R) y los de los lotes 4 (LaC, EV, US, y R) y 2(LaC, EV y R). Lo que indicó que el mayor efecto en el aumento de pH, fue debido a la acción del lactato de calcio .

3.3 Resultados de CRA

En el cuadro 21 se muestran los datos estadísticos de CRA.

Cuadro 21. Datos estadísticos de CRA

Lote	Días de almac.	Repeticiones						$\bar{x}$	D.S	C.V
Materia Prima	0	0	0	0	0	0	0	0	10	1.7
Lote 1 control	2	20	20	20	20	20	20	20	0	0
	7	15	20	15	15	20	20	17.5	2.74	15.65
	14	10	10	10	14	10	10	10.66	1.63	15.30
Lote 2	2	20	20	20	20	20	20	20	0	0
	7	20	20	20	20	20	20	20	0	0
	14	26	26	30	30	-	-	28	2.309	8.248
Lote 3	2	20	20	20	20	20	-	20	0	0
	7	20	20	20	20	24	20	20.67	1.63	7.90
	14	20	20	20	10	20	20	18.33	4.082	22.26
Lote 4	2	20	20	20	20	20	10	18.33	4.08	22.268
	7	20	20	20	20	30	30	24	5.48	22.82
	14	42	30	30	30	-	-	33	6	18.181

En el cuadro 22 se observa el promedio de los datos de CRA, clasificados por lote y días de almacenamiento.

Cuadro 22. Promedio de las muestras de CRA

Días de Almc. / Lote	2días	7días	14 días
Materia prima	0[a]		
Lote 1	20	17.5	10.66
Lote 2	20	20	28
Lote 3	20	20.67	18.33
Lote 4	18.33	24	33

[a] Medición de CRA de la materia prima una 1h después de la matanza

En la Figura 48 se muestran los resultados de la CRA que se obtiene del lote 1- Control: EV, y R., lote 2: LaC, EV y R, lote 3: EV, US y R y lote 4: LaC, EV, US y R. a los días 2, 7 y 14 días de almacenamiento.

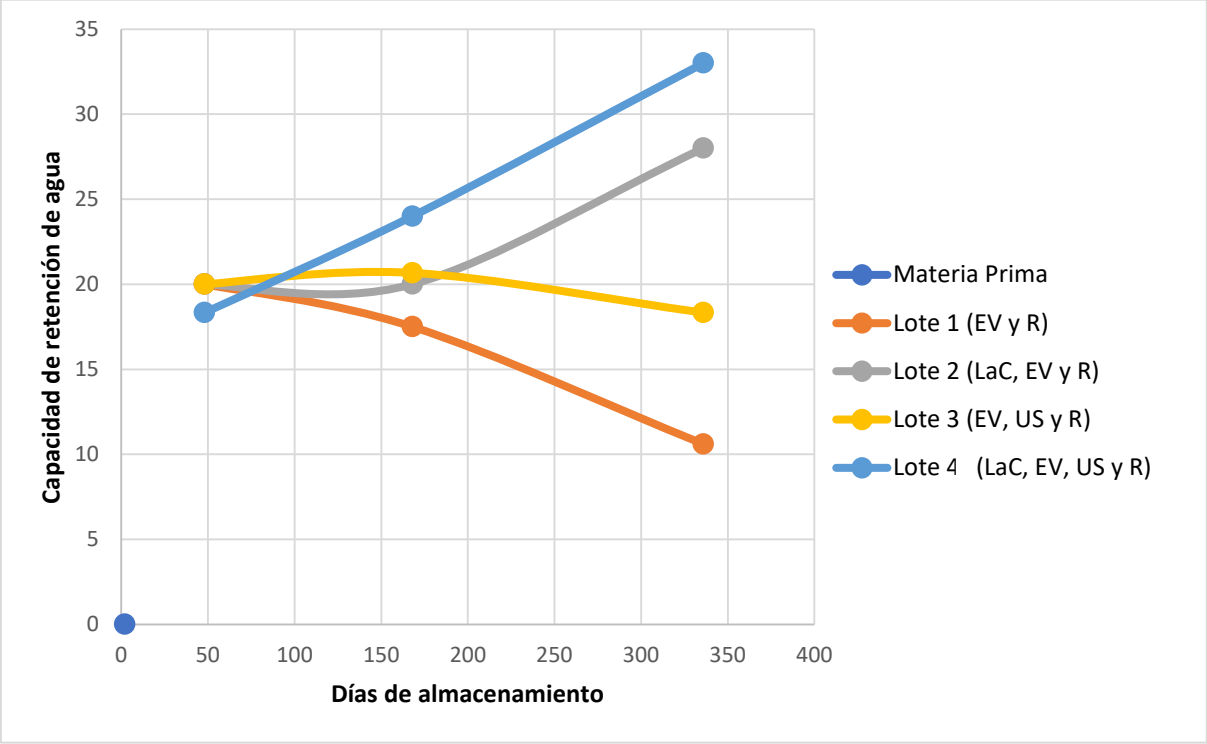

Figura 45. Gráfico de tendencia para CRA

El la Figura 48 se muestra el gráfico de tendencia de la CRA y se aprecia que para la materia prima el valor obtenido medido a la 1h después de sacrificio es 0, esto se le atribuye a la contracción de las proteínas miofibrilares durante el rigor-mortis eliminando su capacidad de fijar agua, por otro lado para los demás tratamientos, conforme aumenta el pH, la CRA va aumentando, como se aprecia en el lote 2(EV, US y R) y lote 4 (LaC, EV, US yR), por el contrario para el lote 1 (EV y R) y lote 3 (EV, US y R), conforme pasan los días de almacenamiento va disminuyendo la CRA.

De acuerdo con el (Li, K., et al. 2020) la proteína miofibrilar (MP) constituye aproximadamente el 50-60% de las proteínas totales de la carne y es la proteína principal que proporciona una excelente CRA.

En el cuadro 24 se muestra un análisis de varianza ANOVA de dos factores (Lote y días de almacenamiento), con un nivel de significancia del 0.05.

Cuadro 23. Promedio de las muestras de CRA

Factor	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Valor de P
Lote	3	807.46	269.15	36.44	0.000
Días de almacenamiento	2	69.63	34.81	4.71	0.013
Interacción	6	856.08	142.68	19.32	0.000
Error	53	391.50	7.39		
Total	64	1971.78			

Los valores del análisis estadístico para pH indican que si existen diferencia significativa ($P<0.05$). Lo que demuestra que tanto los diferentes tratamientos de cada lote, como los días de almacenamiento y su interacción influyen en la CRA.

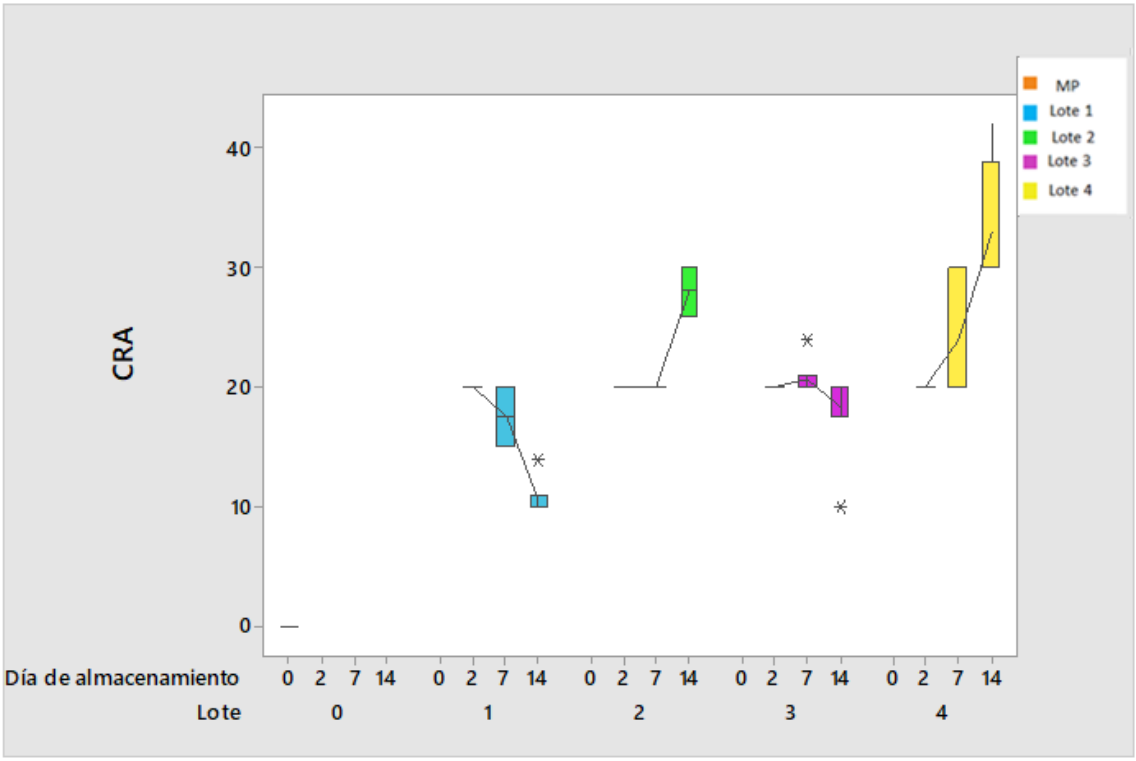

Figura 46. Gráfico de cajas de los resultados de CRA

Con respecto de la gráfica de cajas (Figura 49), se aprecia que los datos del día 2 de todos los tratamientos no tienen amplitud, por lo tanto no hay variación entre las repeticiones realizadas y su respectiva media. Por otro lado, el lote 4 es el que presenta mayor amplitud en las cajas de los días 7 y 14 de almacenamiento, lo que indicó la mayor variación entre la media y los datos obtenidos para esa combinación de tratamientos.

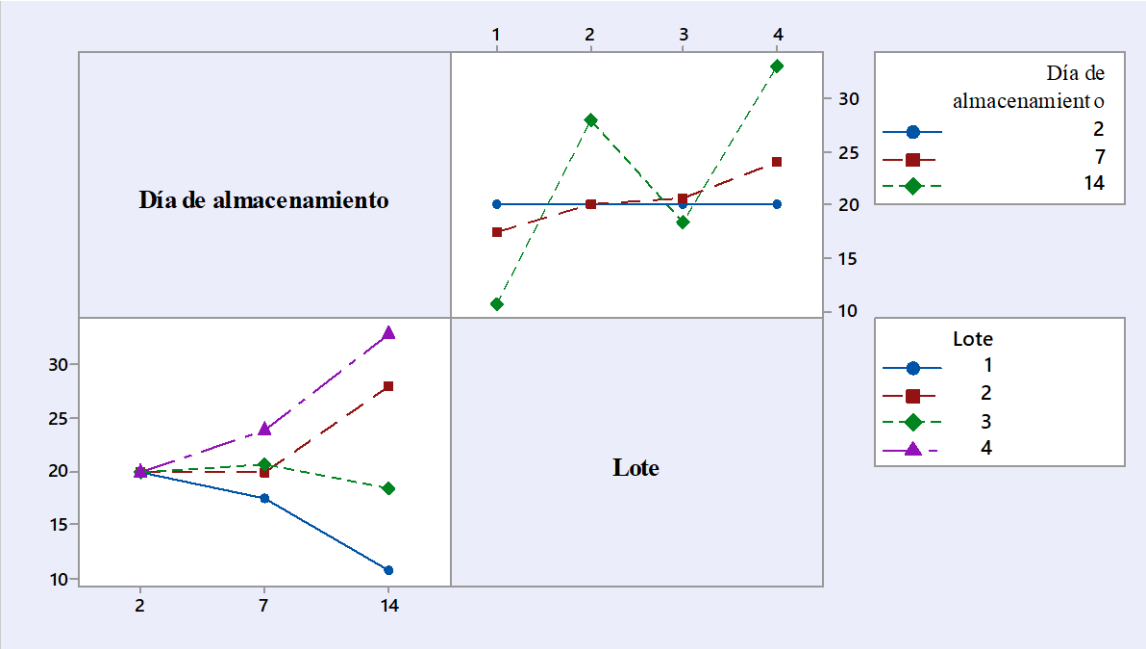

Figura 47. Gráfica de interacción de CRA

En la Figura 50 se puede observar por la intersección de las líneas que existe una interacción entre el valor de CRA y los días de almacenamiento por lo que los valores resultantes dependen de los tratamientos aplicados y también entre los valores de capacidad de retención de agua y los tratamientos aplicados que dependen del tiempo de almacenamiento.

Cuadro 24. Resultados de la prueba de Tukey para CRA con respecto a los días de almacenamiento

Días de almacenamiento	N	Media	Agrupación
14	20	20.9	A
7	23	20.391	A
2	22	20	A
0	6	0	B

Cuadro 25. Resultados de la prueba de Tukey para CRA con respecto a los lotes y tratamientos aplicados

Lote	N	Media	Agrupación
4	14	25.14	A
3	16	22	A B
2	17	19.647	B C
1	18	16.06	C
0	6	0	D

En el cuadro 26 se observa que la CRA de la materia prima tiene diferencias significativas con respecto a la CRA que presentaron todos los tratamientos. Los tratamientos que no presentan diferencias significativas entre sí son el lote 1(EV, R) y 2 (LaC, EV y R); lote 2(LaC, EV y R), y 3 (EV, US y R), y lote 3 (EV, US y R), y 4 (LaC, EV, US y R), Situación por la cual se asevera que dado que no existen diferencias significativas entre los lotes 3 y 4 su efecto en en el aumento del CRA se ve directaemnte relacionado con la ultrasonicación y a su vez si se combinan los cuatro tratamientos, envasado al vacío, refrigerado, adición de lactato y ultrasonicaicón tienen un mayor impacto aumentando en un 25% ésta propiedad si la comparamos con la materia prima, ya que el fenómeno de cavitación afecta la conformación de las proteínas miofibrilares de la carne facilitando la difusión de los iones calcio del lactato por su afinidad con la molécula de la proteína y facilitando también la retención de agua en su estructura

4. Conclusiones

Conclusiones

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de métodos combinados mediante la aspersión de una solución de lactato de calcio [3%] y la aplicación de ultrasonido de alta intensidad [t=10 min, 47 kHz], en el tren posterior de conejo envasado al vacío [850 ± 5 mbar] y refrigerado a 4°C, tras 2, 7 y 14 días de almacenamiento, en sus propiedades fisicoquímicas (pH), microbiológicas (mesófilos aerobios, coliformes totales) y funcionales (CRA).

- Al analizar el pH se apreció un descenso de la materia prima con 6.554 a los diferentes tratamientos (6.13 a 6.21) pasados los dos días de almacenamiento, y mediante un análisis de tukey se determinó que el tratamiento con un mayor efecto sobre el pH fue el lactato de cacio, debido a que el lote 2 (LaC, EV Y R) no presento diferencias significativas con el lote 4 (LaC, EV, US y R), y ambas combinaciones de tratamientos presentaron un comportamiento ascendente de pH durante los 2, 7 y 14 días de almacenamiento.

- La CRA aumentó en la materia prima a los dos días de almacenamiento de los tratamientos analizados. Sin embargo, la combinación de los 4 tratamientos (adición de lactato de calcio, envasado al vacío, ultrasonicado, y refrigeración) fueron capaces de aumentar hasta un 25% ésta propiedad.

  De acuerdo con la prueba de Tukey ,el lote 3 (EV, US y R) y el lote 4 (LaC, EV, US y R) resaltan que la ultrasonicación influyó en gran medida en el aumento de ésta propiedad

- En cuanto al análisis microbiológico, la prueba Tukey muestra que no hay diferencia significativa honesta, en los resultados de coliformes totales, por lo que se puede afirmar que se llevaron correctamente las buenas prácticas de sacrificio y defabricación. .

- Lo mismo ocurrió con los mesófilos aerobios, debido a que la prueba de Tukey confirmo que ningún tratamiento tuvo efecto significativo sobre el crecimiento de éstos, los cuales son controlados principalmente por el envasado al vacío al verse modificado el potencial oxido reducción del medio. Sin embargo se puede recalcar, de acuerdo a la tinción de gram, que la combinación de los cuatro tratamientos (adición de lactato de calcio, envasado al vacío, ultrasonicación, y refrigeración), favoreció el control de las bacterias gram negativas, principalmente el lactato de calcio, debido a que fue el tratamiento donde no se encontraron gram negativas a los 14 días de almacenamiento.

- Entonces la hipótesis EXPERIMENTAL planteada queda aceptada, por el efecto sinérgico que demostró la combinación de la adición de lactato de calcio, el envasado al vacío, la aplicación de ultrasonido de alta intensidad, y refrigeración en el tren posterior de conejo. La combinación de barreras permitió un aumento del pH de la carne, lo que favoreció el aumento de la CRA y la diminución de la microbiota de origen y de proceso, resaltando que tras 14 días de almacenamiento y de acuerdo con la morfología colonial y características que presentaron en la tinción de Gram, demostraron ser gram positivos relacionados con microbiota láctica,. Lo que impactó en la calidad microbiológica y funcional del tren posterior de conejo y ayudó a aumentar su vida útil.

5. Recomendaciones

- Aumentar el tiempo de aplicación del ultrasonido, para constatar si de esa manera su efecto en la materia prima resultaría más relevante.
- Aumentar el tiempo de almacenamiento para generar mayores expectativas.

6. Referencias citadas

Alarcon-Rojo, A. D., Carrillo-Lopez, L. M., Reyes-Villagrana, R., Huerta-Jiménez, M., & Garcia-Galicia, I. A. (2019). Ultrasound and meat quality: A review. *Ultrasonics sonochemistry*, *55*, 369-382.

Alonso, M. D., Lomako, J., Lomako, W. M., & Whelan, W. J. (1995). A new look at the biogenesis of glycogen. *The FASEB journal*, *9*(12), 1126-1137.

Amerling, C. (2001). Antología Tecnología de la carne. *San José, Euned*, 29.

Apple, J. K., Dikeman, M. E., Minton, J. E., McMurphy, R. M., Fedde, M. R., Leith, D. E., & Unruh, J. A. (1995). Effects of restraint and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen metabolism, and incidence of dark-cutting longissimus muscle of sheep. *Journal of animal science*, *73*(8), 2295-2307.

Aran, N. (2001). The effect of calcium and sodium lactates on growth from spores of Bacillus cereus and Clostridium perfringens in a 'sous-vide'beef goulash under temperature abuse. International journal of food microbiology, 63(1-2), 117-123.

Ávila Pineda, G. T., & Fonseca Moreno, M. M. (2008). Calidad microbiológica de jugos preparados en hogares de bienestar familiar en la zona norte de Cundinamarca.

Badui Dergal, S. (2016). *Química de los alimentos*. México, Pearson Educación.

Barreiro, J. A., & Sandoval, A. J. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*. Equinoccio.

Bautista, J. H., López, J. L. A., & Rincón, F. G. R. (2013). Efecto del manejo pre-mortem en la calidad de la carne. *Nacameh*, *7*(2), 41-64.

Bee, G., Anderson, A. L., Lonergan, S. M., & Huff-Lonergan, E. (2007). Rate and extent of pH decline affect proteolysis of cytoskeletal proteins and water-holding capacity in pork. *Meat science*, *76*(2), 359-365.

Bouton, P. E., HARRIS, P. T., & Shorthose, W. R. (1971). Effect of ultimate pH upon the water-holding capacity and tenderness of mutton. *Journal of food science*, *36*(3), 435-439.

Brightwell, G., Clemens, R., Urlich, S., & Boerema, J. (2007). Possible involvement of psychrotolerant Enterobacteriaceae in blown pack spoilage of vacuum-packaged raw meats. *International journal of food microbiology*, *119*(3), 334-339.

Calleja, J. M. R. (2006). *Calidad microbiológica de la carne de conejo y estimación de la eficacia de algunos tratamientos tecnológicos de conservación*. Universidad de León.

Chambers, P. G., Grandin, T., Heinz, G., & Srisuvan, T. (2001). Directrices para el manejo, transporte y sacrificio humanitario del ganado. *RAP Publication (FAO)*.

Chemat, F., & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, *18*(4), 813-835.

Chemat, F., & Ashokkumar, M. (2017). Preface: Ultrasound in the processing of liquid foods, beverages and alcoholic drinks.

Chen, J. H., Ren, Y., Seow, J., Liu, T., Bang, W. S., & Yuk, H. G. (2012). Intervention technologies for ensuring microbiological safety of meat: current and future trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *11*(2), 119-132.

.Dalle Zotte, A., & Szendrő, Z. (2011). The role of rabbit meat as functional food. *Meat science*, *88*(3), 319-331.

Demirdöven, A., & Baysal, T. (2009, October). Combined effects of electrical methods on orange juice production. In *Proceedings of the International Conference on Bio and Food Electrotechnologies* (pp. 22-23).

Damodaran, S., & Parkin, K. L. (2018). *Química de alimentos de Fennema*. Artmed Editora.

Fennema, O. R. (2000). Agua y hielo. *Química de los alimentos. 2nd. Zaragoza, España: Acribia, SA p*, 19-109.

Garcia-Lopez, M. L., Prieto, M., & Otero, A. (1998). The physiological attributes of Gram-negative bacteria associated with spoilage of meat and meat products. *The microbiology of meat and poultry*, 1-34.

Garcia, T., Martín, R., Sanz, B., & Hernández, P. (1995). Extension de la vida util de la carne fresca I: Envasado en atmosferas modificadas y utilizacion de bacterias lacticas y bacteriocinas. *Revista Espanola de Ciencia y Tecnologia deAlimentos*, *35*(1), 1-18.

Gill, C. O. (1986). The control of microbial spoilage in fresh meats. *Advances in meat research (USA)*.

Gill, C. O. (2000). HACCP in primary processing: red meat. *HACCP in the Meat Industry*, 81-122.

Gómez Cárdenas, L., Ponce-Alquicira, E., Ernlund Freitas Macedo, R., & Rubio Lozano, M. S. (2013). Efecto de antimicrobianos naturales sobre la estabilidad físico-química, microbiológica y sensorial de hamburguesas de res mantenidas en refrigeración. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, *4*(3), 255-270.

Grandin, T. (1995). A review of studies of stress during handling and transport. *Journal of Animal Science*, *73*(1), 125.

Gregory, N. G., & Grandin, T. (1998). Animal welfare and meat science (No. 636.08947 G7). *CABI Pub*.

Guerrero, L. I., Ponce, A. E., & Pérez, M. L. (2002). Curso práctico de tecnología de carnes y pescado. *Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. México*.

Honikel, K. O., Roncales, P., & Hamm, R. (1983). The influence of temperature on shortening and rigor onset in beef muscle. *Meat Science*, *8*(3), 221-241.

Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat science*, *71*(1), 194-204.

Hugas, M. (1998). Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Science*, *49*, S139-S150.

ICMSF. (1996). International commission on microbiological specification for foods. Microorganisms in foods.

Jay, J. M., & Kontou, K. S. (1964). Evaluation of the extract-release volume phenomenon as a rapid test for detecting spoilage in beef. *Applied microbiology*, *12*(4), 378-383.

Jandete, H., Martinez, M., & Galvez, C. (2018). Zootecnía Cunícola. 1-22.

Johnston, A. M. (2000). HACCP and farm production, p. 37-80. En Brown M. HACCP in the meat industry. Woodhead Publishing Limited, Cambridge.

Kasaai, M. R. (2013). Input power-mechanism relationship for ultrasonic irradiation: Food and polymer applications.

Kim, HN y Suslick, KS (2018). Los efectos del ultrasonido en los cristales: sonocristalización y sonofragmentación. Cristales , 8 (7), 280.

Kornacki, J. L. (2001). Enterobacteriaceae, coliforms and Escherichia coli as quality and safety indicators. *Compendium of methods for the microbilogical examination of foods*, 69-82.

Kurman, R. J., Henson, D. E., Herbst, A. L., Noller, K. L., Schiffman, M. H., Bonfiglio, T., ... & Westhoff, D. (1994). Interim guidelines for management of abnormal cervical cytology. *Jama*, *271*(23), 1866-1869.

Leistner, L., & Rodel, W. (1976). Stability of intermediate moisture foods with respect to microorganisms. *Intermediate moisture foods*.

Leistner, L. (1988). Shelf-stable edible meat. *Proceedings of the 34 th ICoMST, Brisbane, Australia*, 78-82.

Lewus, C. B., & Montville, T. J. (1991). Detection of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, *13*(2), 145-150.

Liñares, J. C. P., Menduiña, A. B. M., & Reyes, V. S. (1996). El ácido láctico en la industria alimentaria: Aplicaciones y tecnologías de producción. *Alimentación, equipos y tecnología*, *15*(1), 91-100.

Listrat, A., Lebret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., ... & Bugeon, J. (2016). How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. *The Scientific World Journal*, *2016*.

Li, C., Zhou, G., Xu, X., Lundström, K., Karlsson, A., & Lametsch, R. (2015). Phosphoproteome analysis of sarcoplasmic and myofibrillar proteins in bovine longissimus muscle in response to postmortem electrical stimulation. *Food chemistry*, *175*, 197-202.

Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2000). Myosin: The actin motor protein. In *Molecular Cell Biology. 4th edition*. WH Freeman.

Lucquin, I., Zagorec, M., Champomier-Vergès, M., & Chaillou, S. (2012). Fingerprint of lactic acid bacteria population in beef carpaccio is influenced by storage process and seasonal changes. *Food microbiology*, *29*(2), 187-196.

Matthews, J. O., Guzik, A. C., LeMieux, F. M., Southern, L. L., & Bidner, T. D. (2005). Effects of chromium propionate on growth, carcass traits, and pork quality of growing-finishing pigs. *Journal of animal science*, *83*(4), 858-862.

Matarneh, S., England, E., Scheffler, T., & Gerrard, D. (2017). The structure and growth of muscle. In Lawrie´ s Meat Science (pp. 159-182-97). Woodhead Publishing.

Moreira, W. L. (1993). Aislamiento y caracterización parcial de una bacteriocina producida por Pediococcus sp. 347, de origen cárnico. *Trabajo doctoral, facultad veterinaria. Universidad complutense de Madrid, España*.

Moreno García, B. (2006). *Higiene e inspección de carnes I*. Ediciones Díaz de Santos.

NOM- 092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Métodos para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación de diluciones de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

NOM- 113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

NOM-194-SSA1 2004. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrifico y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos

NOM-210-SSA1-2014 Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

NMX-FF-105-SCFI-2005 PRODUCTOS PECUARIOS - CARNE DE CONEJO EN CANAL - CALIDAD DE LA CARNE- CLASIFICACIÓN

NMX-F-317-NORMEX-2013 ALIMENTOS-DETERMINACIÓN DE pH EN ALIMENTOS Y BEBIDAS NO ALCOHÓLICAS-MÉTODO POTENCIOMÉTRICO-MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-F-317-S-1978).

NOM-033-SAG/ZOO-2014, Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres.

Nishimura, T. (2015). Role of extracellular matrix in development of skeletal muscle and postmortem aging of meat. Meat science, 109, 48-55.

Nychas, G. J. E., Skandamis, P. N., Tassou, C. C., & Koutsoumanis, K. P. (2008). Meat spoilage during distribution. Meat science, 78(1-2), 77-89.

.

Palmer, M. L., & Epler, M. E. (2002). Fundamentos De Las Técnicas De Evaluación Musculoesquelética (Bicolor) (Vol. 85). Editorial Paidotribo.

Piñon, M. I., Alarcon-Rojo, A. D., Renteria, A. L., & Carrillo-Lopez, L. M. (2020). Microbiological properties of poultry breast meat treated with high-intensity ultrasound. Ultrasonics, 102, 105680.

Purslow, P. P. (2017). The structure and growth of muscle. In Lawrie´ s Meat Science (pp. 49-97). Woodhead Publishing.

Rahman, S. M. E., Wang, J., & Oh, D. H. (2013). Synergistic effect of low concentration electrolyzed water and calcium lactate to ensure microbial safety, shelf life and sensory quality of fresh pork. Food control, 30(1), 176-183.

Rosenvold, K., Petersen, J. S., Læerke, H. N., Jensen, S. K., Therkildsen, M., Karlsson, A. H., ... & Andersen, H. J. (2001). Muscle glycogen stores and meat quality as affected by strategic finishing feeding of slaughter pigs. Journal of Animal Science, 79(2), 382-391.

Rosenvold, K., & Andersen, H. J. (2003). The significance of pre-slaughter stress and diet on colour and colour stability of pork. Meat Science, 63(2), 199-209.

Rodas-González, A., Narváez-Bravo, C., Brashears, M. M., Rogers, H. B., Tedford, J. L., Clark, G. O., ... & Miller, M. F. (2011). Evaluation of the storage life of vacuum packaged Australian beef. Meat Science, 88(1), 128-138.

Rodríguez-Calleja, J. M., Santos, J. A., Otero, A., & García-López, M. L. (2010). Effect of vacuum and modified atmosphere packaging on the shelf life of rabbit meat Efecto del envasado al vacío y en atmósfera modificada en la vida útil de la carne de conejo. CyTA–Journal of Food, 8(2), 109-116.

Sallam, K. I. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food control, 18(5), 566-575.

Schaefer, A. L., Dubeski, P. L., Aalhus, J. L., & Tong, A. K. W. (2001). Role of nutrition in reducing antemortem stress and meat quality aberrations. Journal of Animal Science, 79(suppl_E), E91-E101.

Scollan, N., Hocquette, J. F., Nuernberg, K., Dannenberger, D., Richardson, I., & Moloney, A. (2006). Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. Meat science, 74(1), 17-33.

Signorini, M. (2007). Microbiología de carnes envasadas al vacío y la biopreservación como medio para prolongar la vida de anaquel. Nacameh, 1(1), 26-40.

Souci, S.W., Fachman, W., Kraut, H. 1986/87. Die Zusammensetzung der Lebensmittel 1986/87 (Food Composition and Nutrition Tables 1986/87). Wissens Chaftliche Verlagsgesellscharft mbh. Stuttgart.

Soyer, A., Özalp, B., Dalmış, Ü., & Bilgin, V. (2010). Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. Food chemistry, 120(4), 1025-1030.

Stadnik, J., Dolatowski, Z. J., & Baranowska, H. M. (2008). Effect of ultrasound treatment on water holding properties and microstructure of beef (m. semimembranosus) during ageing. LWT-Food Science and Technology, 41(10), 2151-2158.

Stephens, D. B. (1980). Stress and its measurement in domestic animals. A review of behavioral and physiological studies under field and laboratory situations. Advances in veterinary science and comparative medicine.

Urrego, M., & Cadavid, L. (2005). Efecto sobre la calidad microbiológica, sensorial y reológica, de la aplicación de tres diferentes niveles de ácido láctico en un corte de carne de res (Huevo de Solomo). Medellín: Universidad Nacional de Colombia.

U.S. Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, 2016a. 9 CFR, Chapter III, Subchapter A, Sec. 301.2. Terminology: Adulteration and Misbranding. Available from: https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2006-title9-vol2/pdf/CFR-2006-title9-vol2-part301.pdf

Velazco, J. (2001). Prevención de PSE en carne de cerdo. Carne tec, 8, 28-34.

Warris, P. (1995) Métodos para evaluar la calidad de la carne de cerdo. Carnetec septiembre. pp18-24

WB McNamara III, YT Didenko, KS Suslick. (1999). Sonoluminiscencia temperaturas durante la cavitación de burbujas múltiples. Nature , 401 (1999) , pág. 772 , 10.1038 / 44536

Wismer Pedersen, J. (1971).Water. In: The Science of Meat and Meat Products (ed. Price, J.R., and Schweigirt, B.S.). San Francisco, CA: W.H. Freeman and Co. p 177–191.

Young, J. F., Bertram, H. C., Rosenvold, K., Lindahl, G., & Oksbjerg, N. (2005). Dietary creatine monohydrate affects quality attributes of Duroc but not Landrace pork. Meat science, 70(4), 717-725.