

ENLATADO DE *ORYCTOLAGUS CUNICULUS* EN AGUA UTILIZANDO
DIFERENTES TIEMPOS DE PRE-COCCIÓN

Por

Luisenrique Molina Carrasquillo

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

En

Ciencia y Tecnología de Alimentos

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGUEZ

2014

Aprobada por:

Aixa Rivera, MS.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

Ernesto Riquelme, Ph.D.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

José Latorre, Ph.D.
Presidente del Comité Graduado

Fecha

Elsie I. Parés Matos, Ph.D.
Representante de la Escuela Graduada

Fecha

Lynette Orellana, Ph.D.
Coordinadora Interina del Programa

Fecha

Abstract

This study is focused on the development of a commercial sterilization method using *Geobacillus stearothermophilus* as a biological marker to can rabbit meat. Rabbits weighing 2.0 kg were used to determine which preprocessing was the best. The measurements of Water Holding Capacity (WHC), tenderness by Warner Bratzler Shear Force and pH were taken to determine the best combinations of time of precook and brine. Based on Jay (2000), D and Z values were determined using different temperatures and an inoculum of *Geobacillus stearothermophilus* in the food matrix. Cans were store for three months after sterilization and tested for presence of microorganisms. The measurements results were high pH on the front legs and the WHC was high on the loin. The brine influenced on WHC, but it was not significant. The precook treatment affected the meat tenderness. The Z value was 39°C and the sterilization conditions calculated were 15.5 minutes at 124°C.

Resumen

Este estudio está enfocado en el desarrollo de un método de esterilización comercial utilizando *Geobacillus stearothermophilus* como indicador biológico para enlatar carne de conejo. Los conejos que pesaban 2.0 kg fueron utilizados para determinar cuál pre-tratamiento era el mejor. Las medidas de Capacidad de Retención de Agua (CRA), la terneza por el método Warner Bratzler Shear Force y pH fueron tomadas para determinar la mejor combinación de tiempo de pre-cocido y salmuera. De acuerdo con Jay (2000), los valores de D y Z fueron determinados usando diferentes temperaturas y un inóculo de *Geobacillus stearothermophilus* en la matriz del alimento. Las latas se almacenaron por tres meses luego del tratamiento de esterilización y se analizaron para detectar presencia de microorganismos. Los resultados de las medidas muestran que el pH de las patas delanteras fue mayor y el CRA fue mayor en el lomo en todos los conejos. La salmuera influyó en el CRA, pero no causó cambios significativos. El tratamiento de la pre-cocción afectó la terneza de la carne. El valor de Z fue de 39°C y las condiciones de esterilización calculadas fueron de 124°C por 15.5 minutos.

Dedicatoria

Este trabajo se lo dedico a toda mi familia porque de una manera u otra todos y cada uno de ellos dieron un poco de sí para que esto se lograra.

A mi esposa Ilyana Yeritza Martínez Cosme porque su apoyo incondicional y comprensión siempre me dio la fortaleza para seguir hacia delante.

A mi hijo Guillermo Enrique Molina Martínez porque esperó pacientemente e inspiró a su padre en esta travesía.

A mi madre Rosa Amalia Carrasquillo Mercado porque su gran ayuda en todo momento fue clave para poder continuar en este duro camino.

A mi hermano Luis Ricardo Molina Carrasquillo por dejarme estar en el paraíso por tanto tiempo sin pedir nada a cambio.

A mi hermana Rosaluz Molina Carrasquillo porque sus consejos y ayuda con mi hijo fueron muy valiosos.

A mi hermana Marirosa Molina Carrasquillo por su apoyo técnico y emocional en todo momento.

Finalmente a mis suegros Nancy Cosme y Juan Falcón por su constante apoyo en tantas diferentes maneras.

Agradecimientos

En primer lugar agradezco al presidente de mi comité graduado, el Dr. José R. Latorre, por haberme llevado por el camino hasta conocer y entrar al programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Su constante apoyo durante la confección de la tesis y su disposición fueron vitales en este proceso.

A la Dra. Edna Negrón por su ayuda constante, consejos y múltiples oportunidades profesionales y educativas. Jamás olvidaré que me enseñó que el trabajar duro siempre te ayudará a alcanzar tus objetivos.

Al Dr. Fernando Pérez Muñoz por sus consejos valiosos, su gran ayuda en el diseño de mi tesis y luego en el análisis de los resultados. Usted creyó en mi proyecto y me ayudo a hacerlo una realidad.

A la Dra. Mildred Chaparro por sus consejos y ayudas para diseñar la microbiología en la tesis.

A la Sra. Magaly Zapata por sus apoyos en el área técnica en la microbiología con materiales, consejos y por darme el placer de trabajar para ella.

Gracias al Dr. Ernesto Riquelme por su apoyo a través del diseño, experimento y análisis estadísticos de los resultados.

Gracias al departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos y a todo su personal de apoyo Lani Montalvo, Gloria Aguilar, Miguel Ruperto, Lilliam Cardona y en especial a Jaime Rivera por toda su ayuda en la parte técnica de mi investigación.

A la Sra. Aixa Rivera por su ayuda en el diseño de la parte experimental de la tesis y por permitirme utilizar su laboratorio para los diferentes análisis necesarios para mi investigación.

Finalmente deseo agradecer a mis compañeros de maestría por sostenerme cada vez que me iba a caer y cada vez que caía me levantaban. A Ariana Méndez por sus sabios consejos para que no cometiera los errores que ella muy bien conoce. A Eduardo Díaz por siempre levantarme el espíritu cuando me encontraba sin fuerzas para seguir. A Pamela Cadavid y Luis Steven Ramírez por siempre brindarme su buen humor.

Índice

Tema	Página
Abstract.....	ii
Resumen.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Índice.....	vii
Lista de Tablas.....	viii
Lista de Figuras.....	ix
Lista de Apéndices.....	x
I. Introducción.....	1
II. Revisión Literaria.....	4
a. Datos relevantes sobre el conejo.....	4
b. La carne de conejo como alimento funcional.....	7
c. Microorganismos presentes en la carne de conejo y métodos utilizados para el control microbiano.....	9
d. Microorganismos de impacto en los productos enlatados.....	12
e. Factores que influyen en el diseño de un tratamiento de esterilización comercial.....	14
III. Materiales y Métodos.....	17
a. Materia Prima.....	17
i. Primera Fase.....	17
1. Medidas de pH.....	18
2. Medidas de Capacidad de Retención de Agua.....	18
3. Medidas de Terneza.....	19
ii. Segunda Fase.....	19
iii. Tercera Fase.....	21
IV. Resultados y Discusión.....	22
a. Selección de Pre-Tratamiento.....	22
b. Determinación de los valores de D y Z del <i>Geobacillus stearothermophilus</i> en el alimento.....	29
c. Análisis microbiológico y proximal de las latas.....	34
V. Conclusiones.....	37
VI. Recomendaciones.....	39
VII. Bibliografía.....	40
VIII. Apéndices.....	47

Lista de Tablas

	Página
Tabla-1 Datos Totales de la Selección del pre-tratamiento.....	22
Tabla-2 Promedios de las lecturas de pH de diferentes cortes previo a la Salmuera.....	23
Tabla-3 Valores promedio de WHC de diferentes cortes previo a la Salmuera.....	23
Tabla-4 Efecto del pre-tratamiento sobre el pH.....	24
Tabla-5 Efecto de la Salmuera sobre el pH.....	24
Tabla-6 Efectos del tiempo, pre-tratamiento, salmuera y sus interacciones sobre el pH.....	25
Tabla-7 Efecto del corte y de las combinaciones de las variables estudiadas sobre el pH experimentales.....	25
Tabla-8 Efecto en el WHC del Pre-tratamiento.....	26
Tabla-9 Efecto en el WHC de las diferentes combinaciones de salmuera y los tratamientos experimentales.....	26
Tabla-10 Efecto en el WHC el tiempo y sus combinaciones.....	26
Tabla-11 Efecto en el WHC de las diferentes combinaciones de cortes y tratamientos experimentales.....	27
Tabla-12 El efecto del pre-tratamiento en el WBS.....	27
Tabla-13 Efecto de la salmuera en el WBS.....	28
Tabla-14 Efecto en el WBS de las diferentes combinaciones de tiempo y tratamientos experimentales.....	28
Tabla-15 Efecto en el WBS de las diferentes combinaciones de cortes y tratamientos experimentales.....	29
Tabla-16 Resultados de los muestreos a las latas a 55°C.....	34
Tabla-17 Resultados de los muestreos a las latas a 35°C.....	34
Tabla-18 Promedios de los Análisis Proximales en los conejos seleccionados.....	35
Tabla-19 Promedios de los Análisis Proximales en las Latas Seleccionadas.....	35

Lista de Figuras

Página

Figura-1 Crecimiento de <i>Geobacillus stearothermophilus</i> en condiciones óptimas a 60°C.....	30
Figura-2 Gráfica Determinación del valor D a 85°C en el medio.....	31
Figura-3 Gráfica Determinación del valor D a 95°C en el medio.....	31
Figura-4 Gráfica Determinación del valor D a 100°C en el medio.....	32
Figura-5 Gráfica Determinación del valor de Z.....	32
Figura-6 Gráfica Diagrama del Procesado Térmico.....	33

Lista de Apéndices

	Página
Apéndice 1. Conejo de la familia Leporidae.....	48
Apéndice 2. Conejo de la familia Ochotonidae.....	49
Apéndice 3. Conejo Rex.....	50
Apéndice 4. Conejo Angora.....	51
Apéndice 5. Conejo Nueva Zelanda.....	52
Apéndice 6. Conejo California.....	53
Apéndice 7. Flujograma Primera Fase del Experimento.....	54
Apéndice 8. DOC-pH Meter Sartorius.....	55
Apéndice 9. Prensa Carver modelo 212041.....	56
Apéndice 10. Planímetro Polar.....	57
Apéndice 11. Warner Bratzler Shear Force marca Salter modelo 3000.....	58
Apéndice 12. Flujograma Segunda Fase Experimental.....	59
Apéndice 13. Diagrama del experimento para determinar Valores de D y Z.....	60
Apéndice 14. Flujograma Primera Tercera Fase del Experimento.....	61
Apéndice 15. Muestras de Microbiología.....	62
Apéndice 16. Maquina para determinar grasa Soxhlet.....	63
Apéndice 17. Máquina Enlatadora.....	64
Apéndice 18. Retorta Estacionaria.....	65
Apéndice 19. Diferentes cortes de la canal de conejo utilizados para la tesis.....	66

I. Introducción

La industria cunícola en América del Norte comenzó a crecer a partir del 1980 debido a varios factores, tales como la accesibilidad de mejores tecnologías, conocimiento más amplio de la materia y la promoción del producto en términos de beneficios para la salud (Riquelme 2009). En Puerto Rico, la producción de carne de conejo abastece el mercado local sin la necesidad de importación. En el año 2009, la producción aumentó por 14% sobre el año anterior (Comas, 2010).

La carne de conejo tiene un contenido bajo de colesterol y de grasas, siendo estas últimas del tipo no saturadas y su contenido total es menor que el de las carnes rojas (Enser, 1996). Presenta mayores contenidos de fosfolípidos y grasas poliinsaturadas que la carne de pollo (Lee, 1977). Sin embargo, esta alta cantidad de grasas no saturadas hace a la carne de conejo sea más propensa a rancidez oxidativa, aún bajo condiciones de refrigeración (Vergara et al., 2005).

A pesar de que la carne de conejo posee esas propiedades beneficiosas a la salud, no se consume en gran escala en Puerto Rico. En los años 2009 al 2010, dicho consumo fue el más bajo de entre todas las carnes comercializadas en la isla. Existen varias causas de semejante comportamiento por los consumidores incluyendo el alto costo del producto relativo a otras carnes, la limitada oferta del producto y la presentación poco atractiva de la canal para el gusto del consumidor (Comas, 2010).

Dos maneras de mejorar esta situación serían (1) aumentar el rendimiento de la canal y (2) mejorar el empaque o presentación al público. En cuanto a la primera de estas opciones, se precisan trabajos de mejoramiento genético para cambiar la actual conformación cónica del conejo a una cilíndrica. Al mejorar la conformación se podrían

obtener cantidades proporcionales de carne en todas las partes del cuerpo, y no solamente de la mayor parte del lomo y patas traseras (Riquelme, 2009). Este tipo de mejoramiento es costoso; se trata de un proceso lento y gradual. Esta lentitud se podría corregir, en parte, utilizando un método de extracción de la mayor cantidad de carne posible de la canal. El método al que se refiere es un pre-cocido de las partes de la canal que permitiría un desprendimiento de la carne con mayor facilidad.

Otra manera de aumentar las ventas del producto sería mejorando su empaque. Un cambio favorable en la apariencia física de la carne inclinaría al público a comprarla. Esto se podría realizar empacando la canal de una manera diferente o procesándola y luego empacándola. Entre las estrategias para el mejoramiento del empaque están el empacado en atmósferas modificadas y el enlatado.

Al considerar la utilización de empaque en atmósferas modificadas se deben tener en cuenta varios factores, entre éstos, el color, la terneza y la jugosidad. El papel que juega el color en la apariencia es de suma importancia para influir al consumidor cuando escoge el tipo de carne a comprar. Por lo tanto, al realizar este tipo de empaque hay que ajustar la cantidad de oxígeno que se le administra ya que éste ayuda en el mejoramiento del color. Por el lado negativo, el oxígeno afecta la estabilidad del producto al promover la rancidez oxidativa. Este tipo de empaque no afecta la terneza y jugosidad de la carne (Vergara et al., 2005).

La perfecta estrategia para el almacenaje seguro de la carne de conejo sería el empaque en condiciones anaeróbicas, ya lista para servir y sin tener que incurrir en gastos de refrigeración. El enlatado es una opción al respecto, siendo un tipo de empaque seguro, estable y que evita pérdidas por rancidez. El enlatado, sólo supera una de tantas situaciones que se presentan en el manejo de la carne de conejo pero surgen las siguientes

interrogantes: ¿Qué tal si uno desea mejorar el deshuese de esa carne para enlatar? ¿Afectará este procedimiento la jugosidad y la ternura? ¿Cuál será el mejor tratamiento para obtener un producto completamente inocuo?

Esta se realizó con los objetivos de establecer cuál método es el más efectivo para el deshuese de la carne de conejo, demostró cómo se afecta la ternura, el pH y la capacidad de retención de agua, se diseñó un tratamiento de esterilización comercial y realizó pruebas de estabilidad para determinar la presencia microbiana, luego de almacenado a temperatura ambiente por tres meses.

II. Revisión Literaria

a. Datos relevantes sobre el conejo

En lo referente a su taxonomía, el conejo pertenece al reino Animal, filum Cordado, clase Mamífero y orden *Lagomorfos*. El orden *Lagomorfos* está compuesto por 80 especies conocidas, las cuales se dividen en dos familias *Leporidae* (Apéndice 1) y *Ochontonidae* (Apéndice 2). El conejo doméstico pertenece a la familia *Leporidae*, al género *Oryctolagus* y a la especie *cuniculus*. Estos animales tienen orejas más largas que anchas y sus extremidades traseras son más largas que las delanteras. Se alimentan de una gama amplia de material vegetativo y no acostumbran almacenar alimento para consumo futuro (Riquelme, 2009). Existen varias razas cuya utilidad varía de acuerdo a los intereses del criador, sean éstos la producción de pieles para la confección de ropa o la producción de carne.

Las razas que mejor se prestan para producción de piel son la Rex (Apéndice 3) y la Angora (Apéndice 4). Las características deseadas al escoger este tipo de conejo son suavidad, densidad, uniformidad, coloración y cantidad de superficie útil del pelaje. Las razas más comunes para la producción de carne incluyen la Nueva Zelandia, California, Himalayo, Americano y Gigante de Flandes y por lo general presentan un peso adulto de 4 a 6 kg. Los conejos recomendables para explotación en Puerto Rico son los Nueva Zelandia (Apéndice 5) y California (Apéndice 6) debido a que están adaptadas para la crianza en jaulas. Además de tener un buen tamaño, las hembras son prolíficas y buenas madres. Localmente lo que existen son animales con las características generales de tales razas, pero son muy pocos los animales de razas puras. Algunas razas de conejos se prestan

para ambos propósitos, piel y carne como la Rex, California, Nueva Zelandia y Gigante de Flandes (Riquelme, 2009).

El conejo es un animal de fácil manejo, ocupa poco espacio y su reproducción es relativamente rápida. Además, el conejo responde a la selección genética para mejoramiento en términos de rendimiento y composición de su carne. A diferencia del pollo, que a pesar de haber sido intensamente seleccionado por muchas generaciones, aún presenta características genéticas defectuosas, tales como carne PSE (Pale Soft Exudative), tales características no se han detectado aún en los conejos (Cavani et al., 2009). Las bondades de la carne de conejo la hacen perfecta para satisfacer las nuevas tendencias en el mercado que se enfoca en alimentos altamente nutritivos y funcionales. Esta carne posee alto contenido proteico, bajo contenido de grasas, y un surtido de minerales y vitaminas del complejo B.

El contenido proteico típico de la carne de conejo es de 20-21%. La mayoría de las proteínas presentes son de alto valor biológico ya que contienen un buen perfil de aminoácidos esenciales (Dalle Zotte, 2004). Los contenidos de arginina, treonina y lisina son más altos que los encontrados en la carne de la pechuga y caderas de pollos y faisanes. (Sales y Hayes, 1996; Strakova et al., 2006). Al comparar la carne de la pechuga de pollo y la del lomo de conejo, se observa que el pollo tiene mayor contenido de proteínas. Sin embargo, si se realiza el mismo ejercicio comparando los muslos y caderas del pollo con los del conejo, entonces resulta mayor el porcentaje de proteína la carne de conejo (Cavani et al., 2009).

Al observar el contenido de grasas presente en la carne de conejo, se pone a relieve la gran diferencia entre ésta y otras carnes, incluyendo la de pollo. Los límites del contenido de grasas presentes en aquella suelen ser de 0.6% a 14.4%, dependiendo de la

presa que sea, siendo el promedio total aproximado 6.8% (Hernández y Gondret, 2006). La razón de grasas insaturadas a saturadas es alta en la carne de conejo (Alasnier et al., 1996; Ramirez et al., 2005). El 60% de los ácidos grasos presentes corresponden al oleico y al linoleico. La proporción de linoléico es hasta 10 veces mayor en la carne de conejo que en carne de res y oveja y el doble que en la de cerdo (Enser et al., 1996). Sin embargo, la carne de conejo sólo contiene cantidades pequeñas de los ácidos grasos eicosapentaenoico y docosahexaenoico que posiblemente ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares (ISSFAL, 2004). El contenido de colesterol también es bajo en la carne de conejo (59 mg/100 g), y menor que en las carnes de cerdo, res y pollo (61, 70 y 81 mg /100 g respectivamente; Dalle Zotte, 2004).

En cuanto a los minerales, la carne de conejo presenta bajas concentraciones de sodio y hierro; en cambio los niveles de fósforo son altos (Combes, 2004). Las carnes, en general, son buena fuente de las vitaminas del complejo B y la de conejo, no es la excepción a esa regla. El consumo de 100 g de carne de conejo aporta aproximadamente los siguientes porcentajes del requisito mínimo diario de una persona adulta: 8% de B₂, 12% de B₅, 21% de B₆, 77% de B₃ y 100% de B₁₂ (Combes, 2004).

La carne de conejo es un alimento sumamente saludable. Es fácil de digerir y recomendable para personas con problemas cardíacos (Pogany M. et al., 2010). Además, se pueden cambiar las características nutricionales de ésta carne mediante el uso de ciertos suplementos nutricionales. Por lo tanto, se le ha llamado alimento funcional a la carne de conejo tanto por la abundancia de nutrientes propios de la misma, como por aquéllos que pueden ser incorporados mediante la suplementación (Hernández, 2008).

b. La Carne de Conejo como Alimento Funcional

El Instituto Nacional de las Ciencias de la Vida de Europa define un alimento funcional como “aquél que puede beneficiar una o más funciones de importancia en el cuerpo, por encima de los efectos nutricionales adecuados, de una manera que es relevante a una mejora en el estado de la salud y o reducción en el riesgo de enfermedades”. Los alimentos funcionales deben permanecer como alimentos, como tal y, deben demostrar sus efectos al ingerirse en cantidades que sean normales en una dieta. No se trata de pastillas ni cápsulas, sino parte de un patrón normal de alimentación (Diplock et al., 1999).

La carne de conejo cumple con esta definición, pero todavía tiene espacio para mejorarse. Se han utilizado diferentes estrategias para mejorar las características nutricionales de la carne de conejo. Las mejoras que serían deseables incluyen la razón de ácidos grasos saturados a poliinsaturados, los contenidos de aminoácidos esenciales, antioxidantes y vitaminas presentes.

El enfoque inicial de los esfuerzos para mejorar estas propiedades nutricionales de la carne de conejo ha sido en las grasas. La carne de conejo ya presenta una alta razón de grasa poliinsaturada a saturada, pero el esfuerzo ahora está dirigido hacia el aumentar dicha razón y también hacia el aumentar la proporción de ácidos grasos $\omega 6$ a $\omega 3$ de las grasas poliinsaturadas.

Al suministrar distintos aceites vegetales en la dieta, se ha aumentado deposición de grasas poliinsaturadas en el cuerpo del conejo (Dalle Zotte, 2002). Muchos de estos aceites y otros materiales son ricos en ácidos grasos poliinsaturados n-3 (Dal Bosco et al., 2004; Kouba et al., 2008; Peiretti y Meineri, 2008). Ejemplos de ello se incluyen los aceites de linaza, de girasol y las semillas de chía (Bernardini et al., 1999; Dal Bosco et al., 2004;

Colin et al., 2005; Hernandez et al., 2007). Estudios recientes demuestran que la coneja madre puede pasar a los gazapos, a través de la leche materna, estos ácidos grasos que se le han administrado a través en la dieta (Castellini et al., 2004; Muñiz et al., 2004). La dieta alta en ácidos grasos no es necesaria durante toda la etapa de crecimiento, ya que bastan dos semanas para aumentar el contenido de aceites poliinsaturados en la canal (Bianchi et al., 2006^a; Gigaud y Combes, 2008; Maerten et al., 2008).

Al aumentar la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados en la canal, ésta se vuelve susceptible a una rancidez oxidativa (Monahan, 2000). Por esta razón, es que los investigadores recomiendan utilizar antioxidantes para contrarrestar ese efecto. Existen varias sustancias que pueden prevenir la oxidación tales como el aceite de oliva extra virgen, la avena, el aceite de orégano y las vitaminas C y E. Se han encontrado depósitos de éstos en los tejidos de la canal luego de administrarse durante su crianza (Lopez-Bote et al., 1997; Catelli et al., 1999; Coni et al., 2000). Inclusive se ha encontrado que la vitamina E, además de prevenir la oxidación, ésta estabiliza el color de la carne hasta su refrigeración (Dalle Zotte, 2000) y puede incrementar la estabilidad oxidativa desde la refrigeración hasta la cocción (Castellini, 1999). En combinación con la vitamina C, también aumenta la estabilidad oxidativa y las reservas de ambas vitaminas en la canal (Castellini, et al., 2000; Lo Fiego et al., 2004). Además, Castellini y colaboradores (1998), encontraron que la vitamina E mejora la terneza de la carne y la capacidad de retención de agua.

En otros estudios se encontró que es posible mejorar o aumentar la cantidad de aminoácidos presentes en la carne de conejo a través de la dieta. En este estudio se administraron en la dieta de los conejos extractos de salvia y orégano para lograr este propósito (Simonova et al., 2010). El orégano es conocido como un agente antimicrobial

por el compuesto cavacrol (Sivropoulou et al., 1996). Por lo tanto, éste también es utilizado para controlar el crecimiento microbiano y retrasar el daño por descomposición bacteriana

c. Microorganismos presentes en la carne de conejo y métodos utilizados para su control

Se ha determinado que la carne de conejo, una vez en el estante refrigerado a 4°C, tiene una vida útil de entre 6 y 8 días (Badr, 2004; Rodríguez Calleja et al., 2005; Mendoza et al., 2007). Varios estudios han determinado que la presencia de 6-7 log ufc/g de microorganismos son suficientes como para causar daño en la carne (Rodríguez y Calleja et al., 2005). En otro estudio, se estimó que la vida útil de la carne de conejo en el estante de 3 días a 4°C (Bobbitt, 2002). Sin embargo, se ha encontrado que la estabilidad de la carne en el estante depende de los conteos iniciales de microorganismos. Cuando los conteos son altos, la vida útil en el estante del producto se verá afectada de sobremanera (Gil et al., 1998).

En la carne de conejo existen varios microorganismos presentes. Entre los más que se destacan están *Pseudomonas*, bacterias ácido lácticas, levaduras y *Brochothrix thermosphacta* (Hernández, 2008). A estos también se pueden añadir los microorganismos que se pueden obtener a través de la matanza. Estos son los microorganismos entéricos, microorganismos aerobios, hongos, levaduras, las bacterias *Clostridium perfringes*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* y *Campylobacter spp* no se encontraron presentes. Los números de los microorganismos entéricos, *Staphylococcus aureus* y otras se redujeron considerablemente

después de la refrigeración de la canal (Hernández, 2008). Los microorganismos durante su crecimiento en la carne causan olores y sabores a putrefacción debido a la degradación de las proteínas y los lípidos (Elmer, 1998).

Varias estrategias se han considerado para poder controlar el crecimiento microbiano. Entre éstas, se encuentran el uso de agentes naturales antimicrobiales en la dieta o directamente al empaque. Se ha probado también con empaques especiales al vacío y atmósferas modificadas. Todos estos utilizando la canal de conejo crudo. Sin embargo, muy pocos o ninguno han trabajado con la carne lista para comer.

Entre los agentes antimicrobiales utilizados están el orégano, el ajo, el tomillo y el tomillo salsero con carvacrol, la alicina, el timol, el p-cymene y el γ -terpinen (Nevas et al., 2004), siendo el orégano uno de los más utilizados. Se ha comprobado que al administrar aceite esencial de orégano se aumenta la estabilidad de la canal. Este aceite esencial reduce los promedios de los conteos de microorganismos durante un periodo de hasta 12 días en refrigeración e igualmente aumenta los días para sentir el olor a putrefacción y a biopelículas, que son características del crecimiento microbiano en la canal (Soutos et al., 2009). En otros estudios se ha encontrado que el alimentar a los conejos con alfalfa o con semillas de linaza se logra bajar los conteos microbianos (Vannini et al., 2003).

Otras de las maneras utilizadas para reducir el crecimiento microbiano es el utilizar empaques con atmósferas modificadas. Existen varios tipos de empaques de atmósferas modificadas. Entre los gases utilizados están el dióxido de carbono, el oxígeno y el nitrógeno. En algunos casos se desea crear un ambiente detrimental para microorganismos aerobio, lo que se logra reduciendo significativamente la porción de oxígeno a dióxido de carbono (Rodríguez-Calleja, 2009).

Muchas veces el dióxido de carbono afecta la coloración de la carne, ya que el color rojo o rosado resulta de la interacción del oxígeno con la mioglobina del músculo. En otros casos estudiados, se desea crear un ambiente equilibrado para que haya un intercambio efectivo de gases entre el producto y el ambiente, que lo más utilizado para frutas. Muchos estudios se han realizado utilizando atmósferas modificadas y los conejos no han quedado exentos. Vergara y colaboradores en el 2005 utilizaron varias combinaciones de gases para aumentar la estabilidad del conejo empacado. El resultado fue que las combinaciones con mayor dióxido de carbono impartían características menos deseables a la carne. El dióxido de carbono ocasionó una coloración poco atractiva y causó también un aumento en la pérdida de líquidos. Sin embargo, estas combinaciones redujeron significativamente la rancidez oxidativa y aumentó la estabilidad microbiana del producto. Luego de muchas evaluaciones, entonces se determinó que el mejor empaque es aquél que contiene una proporción de 30% dióxido de carbono y 70% oxígeno. Esta composición en el empaque extiende la vida del conejo en el estante por hasta 15 días (Berruga et al., 2005).

Los empaques con atmósferas modificadas proveen la estabilidad a los productos, pero no evita que el producto sea perecedero. Existen otros empaques, bajo distintas condiciones, que proveen una mayor estabilidad y durabilidad a los productos. Estos pueden permanecer hasta por varios años sin perder sus características organolépticas y de inocuidad, siendo perfectamente seguros para el consumo del público, en general. Sin embargo, para que esto sea posible, se deben de realizar ciertos ajustes como un procesado previo y una inocuidad adecuada.

Los envases enlatados proveen una estabilidad necesaria a los alimentos en el estante a temperatura ambiente, si estos han pasado por un proceso previo de esterilización comercial. La esterilización comercial es un proceso en el que se le aplica calor al producto

final para que quede libre de microorganismos que son capaces de reproducirse bajo condiciones normales de almacenamiento y distribución sin refrigeración. Más previo a eso, deben pasar por un pre-procesado bajo unas condiciones inocuas, ya que pueden aún continuar contaminados si no son manejados adecuadamente. Para la mayoría de los alimentos, de acuerdo a su composición y empaque, ya se conocen unos microorganismos que lo pueden impactar y echar a perder o, peor aún, convertirse en una amenaza a la salud. Los enlatados son impactados mayoritariamente por microorganismos que son anaerobios.

d. Microorganismos de impacto en los productos enlatados

Existen varios tipos de microorganismos de interés en los productos enlatados. En su inmensa mayoría son anaerobios y muchos de ellos, son productores de esporas y hasta termofílicos. Entre los microorganismos bacteriales más conocidos, que cumplen con estas características, están los pertenecientes a los géneros *Clostridium*, *Bacillus* y *Thermoanaerobacterium*.

Según el contenido de la lata y su producto en este, será el microorganismo encontrado como el tratamiento a ser aplicado. Existen varios tipos de enlatados, entre estos, están los que son de baja acidez, acidez media y alta acidez. Los alimentos con alto grado de acidez son aquellos en donde el pH interno es menor de 3.7. Aquéllos con una acidez media tienen un pH que fluctúa entre 3.7 a 4.6 y baja acidez tienen un pH mayor de 4.7 (GMA, 2007).

En los alimentos con baja acidez, como en nuestro caso, se pueden incluir las carnes, la leche, los productos marinos y algunos vegetales. Dentro de los microorganismos que dañan estos tipos de alimento están los termofílicos y los mesofílicos. Dentro de los

termofílicos, están los que producen un sabor agrio como el *Geobacillus stearothermophilus*, los que producen azufre como con *Clostridium nigrificans*, y los que producen gases como el *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*. Dentro de los mesofílicos se pueden mencionar los anaerobios putrefactores tales como el *Clostridium botulinum*, productor de toxinas.

En diversos estudios se ha encontrado la presencia de *Geobacillus stearothermophilus* en distintos productos enlatados que poseen una Actividad de Agua (Aw) alta y una baja acidez como por ejemplo la crema de maíz, los guisantes y las habichuelas (Richmond y Fields, 1966). El Aw se conoce como el agua disponible en el alimento para que así ocurra actividad microbiana (Jay, 2000). En Taiwán, se encontraron cepas de *Geobacillus stearothermophilus* en los espárragos enlatados en el año 1963 (Chau-Ching et al., 1967). En otro estudio realizado, se verificaron unos productos enlatados no estables y se encontraron siete cepas de *Geobacillus*. En ese mismo estudio también se encontraron cepas de *Geobacillus stearothermophilus* en diferentes especias (Prevost et al., 2010). En otros estudios se encontraron que más del 80% del daño a productos enlatados provenía de los tres géneros antes mencionados y en donde el *Geobacillus stearothermophilus* estuvo presente en más del 35% de estos (André et al., 2013).

Existen varios métodos para prevenir el crecimiento de estos microorganismos en los productos enlatados. Tales métodos incluyen acidificación y altas temperaturas (GMA, 2007). Dependiendo del alimento, entonces será el método a establecer y su frecuencia. Cuando son alimentos con alto grado de acidez, generalmente se les aplica un tratamiento de calor menos intenso ya que la acidez de por sí provee un control microbiano. En el caso de alimentos con pocos componentes y/o de latas más pequeñas, el tratamiento

generalmente será menos intenso, pero deberá probar su efectividad. Cuando se está elaborando un tratamiento de esterilización comercial para alimentos de baja acidez, entonces se deben de tomar en consideración varios factores. Estos factores serán discutidos en la próxima sección.

e. Factores que influyen en el diseño de un tratamiento de esterilización comercial.

Existen varios factores que afectan el tratamiento de esterilización a realizar en los enlatados. Entre estos, se pueden mencionar la cantidad de agua presente, la presencia de grasas, las sales, los carbohidratos, las proteínas, número de microorganismos, la edad de los microorganismos, la temperatura de crecimiento y la combinación tiempo y temperatura.

El agua afecta la efectividad del tratamiento ya que se acopla a las proteínas e incrementa el tiempo de transferencia de calor en el producto. Sin, embargo el aceite provee una transferencia de calor más lenta. La presencia de grasas ha demostrado que estas pueden proteger a los microorganismos de los efectos del calor y mientras más largas las cadenas de lípidos, más protegidos están (Sugiyama, 1951). Se ha demostrado que las sales, en algunos casos, causan debilidad en los microorganismos. En otros casos, se ha visto que algunas sales tales como el CaCl_2 pueden proteger del calor a algunos microorganismos (Levison et al., 1964).

Los carbohidratos se ha encontrado que estos también pueden proteger a los microorganismos de los efectos del calor (Corry, 1974). Otros componentes como las proteínas al igual que los carbohidratos protegen a los microorganismos del calor. Se

recomienda que los alimentos altos en contenido proteico se le aplique mayor cantidad de calor para que sea efectivo el tratamiento ya que las proteínas interfieren con la transferencia de calor a través del alimento.

El número de microorganismos es otro factor determinante en cuanto a la resistencia térmica. Se ha encontrado que mientras más microorganismos presentes haya, entonces mayor será la resistencia al calor ya que estas poblaciones segregan proteínas que les protegen. Si la población se encuentra en la etapa estacionaria, es más resistente ante la acción del calor y generalmente ésta es la etapa en la que prevalecen los microorganismos en los alimentos (Ng et al., 1969).

La temperatura óptima para el crecimiento de los microorganismos es un factor determinante. Esto se debe que se ha encontrado que a medida que la temperatura de incubación aumenta, entonces la resistencia de los microorganismos a las altas temperaturas aumenta. En estudios hechos con *S. senftenberg* se encontró que los cultivos crecidos a altas temperaturas eran más resistentes que aquellos a temperaturas más bajas (Jay, 2000).

En general, cuando se realiza un estudio de inoculación, publicaciones previas recomiendan el que se realice este tipo de estudio con un microorganismo que sea análogo al patogénico. Entre las características deseables para este microorganismo sustituto están que tenga capacidades parecidas o más robustas al patógeno. El hecho de que el microorganismo sea más robusto es apoyado por las autoridades de procesamiento como el Codex (Codex, 1993). También se debe de tener en consideración que sea no patogénico, de crecimiento reproducible, de fácil preparación, estable genéticamente y que las poblaciones sean estables en altos números hasta utilizarse. Según El Comité Nacional Supervisor de Criterios en Microbiología para Alimentos (NACMCF) el sustituto perfecto para el *Clostridium botulinum* es el *Clostridium sporogenes* (NACMCF, 2009). A pesar

de esta consideración, este microorganismo es de difícil manejo ya que es un anaerobio estricto y los controles que se deben de llevar son rigurosos. Además, se han encontrado que las esporas de *Geobacillus stearothermophilus* son hasta 20 veces más resistentes que las de *Clostridium botulinum* (Martínez et al., 2009).

Cuando se diseña el tratamiento térmico, hay que tener en cuenta también otros factores que afectan más allá del producto. Estos factores son el equipo como tal, la transferencia de calor en el empaque y el tiempo en que entra en temperatura el producto. En cuanto al equipo hay que tener en cuenta con que material está construido y el grosor del material. Esto sirve para determinar aproximadamente cuanto tiempo tomará llegar a la temperatura deseada, si sostendrá la temperatura y si no existen fugas de vapor. Al igual que es importante ver si la caldera y el equipo administran apropiadamente el vapor. La transferencia de calor a través del empaque es otro factor importante ya que dependiendo del tamaño del empaque, pues así será su transferencia. Al final cabe destacar el tiempo en que entra en temperatura el producto y como podría afectar la naturaleza del tratamiento (Jay, 2000).

III. Materiales y Métodos

a. Materia Prima

La materia prima utilizada en este experimento fue carne de *Orytolagus cuniculus* o mejor conocido como conejo doméstico. Las 24 canales de conejo fueron obtenidas de la granja cunícola del Departamento de Industria Pecuaria de la Universidad de Puerto Rico Recinto de Mayagüez localizada en Lajas. Las canales de los conejos pesaban aproximadamente 1.4 kilos. Las especias frescas utilizadas (ajo, cebolla y orégano) fueron adquiridas en el supermercado local. Las latas utilizadas y las dimensiones son (210 mm x 106 mm con una capacidad aproximada de 90 gramos) fueron donadas por Ardargh Group.

i. Primera Fase

El proceso se inició descongelando las canales de conejos en el refrigerador de un día para otro. Luego, se procedió a enjuagarlas con agua potable y a trozarlas en seis piezas (patas delanteras, patas traseras y lomo; véase Apéndice 7). Los trozos de carne fueron marinados por tres horas y se determinó el pH, la capacidad de retención de agua y la ternura, tanto antes como después del proceso de marinado.

1. Medidas de pH

El conejo fue dividido en diferentes secciones y medido. Estas secciones fueron patas delanteras, patas traseras y lomo. A cada una de estas secciones se le tomaron medidas según establecido por Jansen (2001). Véase el Apéndice 19 para más detalles. Previo a comenzar el proceso de medición, se realizó una calibración del equipo DOC-pH Meter Sartorius (Apéndice 8) con tres soluciones de diferentes pH los cuales fueron 4, 7 y 10. Una vez calibrado, se tomaron las piezas y se le extrajeron 5 gramos de carne que no contenían tejido conectivo visible y tampoco grasa. Estas muestras se molieron y se depositaron en un tubo de ensayo de 50.0 mL. Luego, se procedió a añadir 5.0 mL de agua destilada y se mezcló con un agitador de vidrio. Se tomaron las debidas precauciones entre cada lectura para evitar discrepancias entre lecturas de la misma pieza. Entre cada lectura se lavó con agua destilada y se secó con Kimwipes TM la sonda del metro de pH. Estas lecturas de pH fueron realizadas previas al marinado y luego de este proceso.

2. Medidas de Capacidad de Retención de Agua

Se utilizó el método descrito por Jay (1965) e Irie et al. (1996). Éste consiste en tomar un pedazo de carne de 0.5 g para ponerlo en un papel de filtro Whatman #1 y aplicarle una presión de 3,000 lbs entre dos placas de acrílico de 10 cm por 10 cm, por un periodo de un minuto en una Prensa Carver, modelo 212041 (Apéndice 9). Al finalizar, se midió la circunferencia de las muestras con un Planímetro Polar (K&E 6200; véase el Apéndice 10). Una vez realizada la lectura, se calculó la capacidad de retención de agua dividiendo la circunferencia del agua desplazada entre la circunferencia de la carne.

3. Medidas de Terneza

Las medidas de terneza se realizaron antes de la pre-cocción y después de este proceso. El método utilizado fue el de Warner Bratzler Shear Force establecido por la Asociación Americana de Ciencia de la Carne (1995). Los músculos muestreados fueron pertenecientes a ¼ delantero, en donde se tomaron las muestras mayoritariamente del Tríceps Brachii y el Bíceps Brachii, a ¼ trasero del Biceps Femoris y Rectus femoris en el caso del lomo se tomaron del Latissimus Dorsi. A las patas delanteras se le removió un trozo de aproximadamente un centímetro, en todas las ocasiones, de acuerdo a la Asociación Americana de Ciencia de la Carne (AMSA). De las demás piezas se obtuvieron muestras con un sacabocados de 1.27 cm de diámetro. Cada muestra estaba libre de tejido conectivo y grasa, tomada a favor de la fibra muscular. Las muestras se midieron con el Warner Bratzler Shear Force, marca Salter, modelo 3000, en donde cada una de las tres muestras medidas se colocó de forma perpendicular a la cuchilla (Apéndice 11).

ii. Segunda Fase

Durante esta fase se realizó una curva de crecimiento de *Geobacillus stearothermophilus* para determinar en qué momento alcanzó su etapa estacionaria (Apéndice 12). En un matraz Erlenmeyer con medio Caldo con Tripticasa de Soja se inoculó el caldo con *Geobacillus stearothermophilus* y se incubó por 6 horas a 60°C, con agitación continua. Durante este periodo se tomaron lecturas de absorbancia cada 15 minutos y se inocularon platos con Agar con Tripticasa de Soja. En cada muestreo se realizaron diluciones seriadas. Inicialmente se comenzó realizando diluciones por las primeras tres horas de 10^{-1} hasta 10^{-5} y luego en las restantes tres de 10^{-5} hasta 10^{-7} . Luego

de este proceso, se incubaron los platos a una temperatura de 60°C por 24 horas y se evaluó el crecimiento.

Una vez obtenido el tiempo necesario para que *Geobacillus stearothermophilus* entrara en la etapa estacionaria de crecimiento, entonces se procedió a realizar la curva de muerte térmica a tres temperaturas diferentes a 85°C, 95°C y 100°C. En primera instancia se tomaron del caldo del conejo ya pre-cocido 500 mL para echar la cantidad de líquido utilizado en la lata. Luego, se tomaron 1000 mL para posteriormente inocularlo con la bacteria en etapa estacionaria con una carga bacteriana no menor a 10^7 . Entonces, se tomó una cuarta parte de todos los componentes de la lata y se depositaron en tubos de ensayo. Cada tubo contenía una cantidad de 24 mL y 1 mL de caldo inoculado sumando un volumen total de 25 mL. En todas las corridas de temperatura se usaron un total de 2 tubos por cada tiempo en minutos y uno adicional siendo este el control que contenía el termómetro.

En la primera temperatura a 85°C, se sacaron los tubos cada cuatro minutos y se muestrearon. A las temperaturas de 95°C y 100°C se sacaron los primeros tres tubos cada minuto, los siguientes cada dos minutos, los últimos tres cada tres minutos y se muestrearon. A cada tubo se le realizó una dilución seriada hasta 10^{-3} y se incubaron a 60°C por un espacio de 24 horas en TSB (Apéndice 13). Una vez obtenidos los resultados, se calcularon los valores de D y Z para este microorganismo en el producto (Figura 4). El valor de D es el que determina el tiempo necesario en minutos para eliminar el 90% de las células viables o esporas de un microorganismo, en particular, a una temperatura constante. Altos valores de D indican mayor resistencia de un microorganismo al calor. El valor de Z es el cambio en temperatura de calentamiento necesaria para cambiar el valor de D en un

90%. Esta provee información necesaria de la resistencia relativa de un microorganismo a diferentes temperaturas (Jay, 200).

iii. Tercera Fase

En esta fase experimental se procedió a pre-cocinar al vapor (Apéndice 14) la canal de conejo en piezas por un tiempo de 50 minutos. Luego, se deshuesó manualmente para remover toda la carne y se mezcló. Se tomó la carne con el caldo que se obtuvo durante la pre-cocción y se depositaron en las latas. Para culminar esta fase, se hicieron los análisis microbiológicos según lo establecido por los procedimientos del USDA 1998 para productos enlatados. Se tomaron tres latas y se muestrearon mensualmente para determinar presencia o ausencia de microorganismos. Al finalizar, se tomaron tres canales de conejos al azar para determinar su composición proximal y de igual manera se hizo lo mismo con las latas. Los métodos de la AOAC utilizados fueron determinación de proteína bruta (991.20), grasa cruda (960.39), humedad y ceniza. Por último, cabe destacar que se realizó un análisis estadístico de comparación de los resultados por ANOVA de parcelas subdivididas.

IV. Resultados y Discusión

a. Selección de Pre-Tratamiento

A continuación los registros de las pruebas realizadas para determinar el pre-tratamiento más adecuado para el enlatado. Los resultados de las pruebas (Tabla-1) eran registrados el día en cual se realizaba el experimento a excepción de la capacidad de retención de agua que se realizaba posteriormente, una vez la muestra estaba seca.

Tabla-1 Datos Totales de la Selección del Pre-tratamiento.

Tratamiento	Tiempo (min)	Repetición	ANTES DE SALMUERA									DESPUES DE SALMUERA								
			Pata delantera			Pata Trasera			Lomo			Pata delantera			Pata Trasera			Lomo		
			pH	WBS	WHC	pH	WBS	WHC	pH	WBS	WHC	pH	WBS	WHC	pH	WBS	WHC	pH	WBS	WHC
1	40	1	5.88	1.4	3.41	5.72	0.9	2.99	5.48	0.23	2.54	6.15	1.2	3.4	6.02	2.4	2.36	5.6	1.5	2.63
1	40	2	5.63	1.2	4.77	5.62	1.2	3.17	5.39	0.37	3.2	5.91	2.9	3.5	5.58	3.1	6.8	5.3	4.5	6.35
1	50	1	6.19	3.4	3.27	6.09	0.6	3.77	6.1	0.2	2.27	6.19	0.5	2.3	5.97	2.5	2.29	5.7	2	2.3
1	50	2	6.04	2.6	4.65	5.65	2.3	3.3	5.52	0.4	4.69	5.99	1.6	4.6	5.85	1	4.1	5.5	3.7	4.3
1	60	1	5.68	2.1	5.99	5.46	1.3	4.13	5.3	0.7	3.63	5.6	0.8	6.5	5.45	1.8	3.45	5.4	4.7	4.66
1	60	2	5.8	1.8	2.77	5.56	1.5	2.81	5.44	0.6	2.45	5.77	2.1	2.8	5.63	2.7	2.19	5.4	2	2
2	40	1	5.73	1	2.49	5.54	1.1	2.28	5.61	0.1	2.27	5.77	2.67	2.5	5.71	3.7	2.4	5.6	4.2	2
2	40	2	6.05	0.8	1.63	5.92	0.9	2.07	5.91	0.2	1.5	5.95	3.2	2.6	5.97	0.9	1.81	5.8	1	2.03
2	50	1	6.02	1.2	3.26	5.62	1.3	3.55	5.46	1	2.68	5.8	1.1	6.2	5.59	1.7	2.61	5.5	1.4	1.91
2	50	2	5.88	2.2	1.67	5.58	2.6	1.95	5.62	0.4	1.74	5.88	0.7	2.8	5.65	1	1.82	5.6	1.1	1.54
2	60	1	6.16	1.9	2.88	5.75	1	1.77	5.87	0.5	2.49	6.1	0.4	2.4	5.63	0.6	3	5.9	2	2.76
2	60	2	5.86	1.9	1.96	5.65	3.7	2.05	5.39	1	1.57	5.66	0.9	2.5	5.61	1.1	1.78	5.4	2.4	1.85
3	40	1	6.26	1.9	2.28	6.06	0.6	1.86	5.91	2	1.81	6.27	0.4	1.4	5.92	0.8	1.88	6.3	2	1.67
3	40	2	5.7	2.3	3.61	5.58	3	3.61	5.59	0.6	2.96	5.7	0.8	2.3	5.52	1.9	2.38	5.6	3.1	2.53
3	50	1	6.42	0.8	2.53	5.76	1	2.3	5.53	0.6	2.38	6.66	0.5	2.4	6.12	0.9	1.96	6	1.8	2.24
3	50	2	5.85	1.1	3.26	5.62	1.37	3.24	5.47	0.5	3.56	5.86	0.6	1.6	5.76	1.5	2.39	5.5	4	2.75
3	60	1	5.87	1.7	3.63	5.66	2.8	2.53	5.46	0.7	2.1	5.94	0.3	2.5	5.99	1.5	2.15	5.7	2.5	2.02
3	60	2	5.7	3	2.05	5.56	1.6	2.33	5.47	0.6	2.19	5.69	0.7	2.2	5.66	1.6	2.66	5.6	3.6	2.49
4	40	1	6.04	1.8	2.74	5.92	2.8	3.02	5.82	0.3	2.7	6.05	1	1.8	5.77	1.2	1.92	5.6	2.6	1.93
4	40	2	5.94	4.2	2.17	6.19	1.2	2.01	5.56	0.2	1.85	5.95	0.5	2	5.78	0.8	1.72	5.6	2	2.07
4	50	1	5.77	3.4	3.3	5.6	0.2	2.76	5.66	1.1	2.66	5.66	0.6	2	5.68	2.6	2.07	5.5	4.3	2.67
4	50	2	5.77	2.1	2.53	5.41	1.1	2.45	5.22	0.8	2.63	5.49	0.6	1.9	5.49	1.7	2.57	5.3	3.5	2.64
4	60	1	5.75	1.8	2.43	5.61	0.2	2	5.51	0.2	2.19	5.69	0.6	1.8	5.55	0.9	2.4	5.6	3.1	1.7
4	60	2	5.8	1.4	2.31	5.54	2.1	2.94	5.46	0.8	2.88	5.68	0.7	2.1	5.44	3.7	2.15	5.3	2.5	3.23

Tabla-2 Promedios de pH de los diferentes cortes previo a la Salmuera.

Corte	Media	Mínimo	Máximo	D.S.
Pata Delantera	5.91	5.74	6.14	0.20
Pata Trasera	5.69	5.505	6.06	0.20
Lomo	5.57	5.37	5.81	0.21

En la Tabla-2 se presentan los promedios de pH de los diferentes cortes previo a salmuera. Se puede observar que el pH de la carne de la pata delantera fue más alto y el lomo mostró tener el menor valor. Estos resultados son consistentes a los encontrados en la literatura, donde los valores de pH encontrados en el *Biceps femoris* son mayores a los encontrados en el *Longissimus dorsi*. Esto ocurre debido a que el bíceps contiene menos actividad glicolítica y más actividad oxidativa, promoviendo de esta manera que la baja en pH sea más lenta (Ouhayoun y Dalle, 1993).

Tabla-3 Valores promedio de WHC de diferentes cortes previo a la Salmuera.

Corte	Media	Mínimo	Máximo	D.S.
Pata Delantera	2.98	2.06	4.38	1.03
Pata Trasera	2.70	1.91	3.535	0.67
Lomo	2.54	1.89	3.48	0.72

En la Tabla-3 se puede apreciar que la capacidad de retención de agua fue mayor en la pata delantera, mientras que el lomo fue el que registró menor valor WHC. La retención de agua, según la metodología empleada para medirla, debe de acercarse a 1 para indicar

una mayor capacidad de retención en los tejidos. Este resultado se debe a la influencia del pH sobre las proteínas. Mientras más ácido es el valor de pH, las proteínas pierden la conformación y su capacidad de retención de agua se reduce. Esto a su vez promueve la pérdida de agua debido a que muy pocas proteínas quedan libres para atraer el agua. Sin embargo, se observó que la retención de agua resulta ser mayor en el lomo que en la pata delantera. Este comportamiento pudo haber sido debido a que las canales de los conejos utilizados fueron congeladas inmediatamente después de la matanza, lo que retrasó el proceso natural de la acidificación de la carne y la retención de agua no se vio afectada. Cabe destacar que en otros estudios se ha encontrado que en el lomo la acidificación de los tejidos es más rápida debido a la glicólisis que ocurre en los músculos blancos. Por consiguiente, se produce ácido láctico y a su vez acidez en el tejido, pero más rápido (Ouhayoun y Dalle, 1993).

Tabla-4 Efecto del pre-tratamiento sobre el pH

Combinación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de los Cuadrados	Valor F	Pr > F
PreTr	1	0.004	0.004	0.01	0.932

Tabla-5 Efecto de la Salmuera sobre el pH.

Combinación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de los Cuadrados	Valor F	Pr > F
Salmuera	3	0.437	0.146	1.37	0.339
PreTr*Salmuera	3	0.207	0.069	0.65	0.612

Ni el pre-tratamiento (Tabla-4) ni la salmuera (Tabla-5) afectaron el valor de pH. Sin embargo, hubo un efecto significativo del tiempo ($P = 0.029$) y de la interacción tiempo x salmuera.

Tabla-6 Efectos del tiempo, pre-tratamiento, salmuera y sus interacciones sobre el pH.

Combinación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de los Cuadrados	Valor F	Pr > F
Tiempo	2	0.648	0.324	4.42	0.030
PreTr*Tiempo	2	0.001	0.0004	0.01	0.995
Salmuera*Tiempo	6	1.132	0.189	2.58	0.061
PreTr*Salmuer*Tiempo	6	0.131	0.022	0.30	0.928

Tabla-7 Efecto del corte y de las combinaciones de las variables estudiadas sobre el pH.

Combinación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de los Cuadrados	Valor F	Pr > F
Corte	2	2.460	1.230	109.12	<.0001
PreTr*Corte	2	0.0127	0.006	0.56	0.573
Salmuera*Corte	6	0.109	0.018	1.62	0.163
Tiempo*Corte	4	0.094	0.024	2.09	0.097
PreTr*Salmuera*Corte	6	0.065	0.011	0.96	0.464
PreTr*Tiempo*Corte	4	0.081	0.020	1.80	0.145
PreT*Salm*Tiem*Corte	24	0.409	0.017	1.51	0.111

No se observaron efectos adversos del pre-tratamiento, salmuera, tiempo y sus interacciones (Tabla-6). Sin embargo, el corte de la carne de conejo afectó significativamente a la acidez de los tejidos (Tabla-7). Esto pudo deberse a que algunas de estas variables no afectan directamente el pH. No se espera que el tiempo influya en el pH ya que éste se le aplicaba a la canal luego de haberse realizado las lecturas. Sin embargo, la combinación de salmuera y el corte pudieron haber afectado directamente el pH, pero no se demostró ningún efecto significativo. Este fenómeno posiblemente pudo haber ocurrido debido a la acción del NaCl, que solubilizó las proteínas y de esta manera estabilizó el pH (Ouhayoun, 1993).

Tabla-8 Efecto en el WHC del Pre-tratamiento.

Combinación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de los Cuadrados	Valor F	Pr > F
PreTr	1	0.476	0.476	1.50	0.346

Tabla-9 Efecto en el WHC de las diferentes combinaciones de salmuera y los tratamientos experimentales.

Combinación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de los Cuadrados	Valor F	Pr > F
Salmuera	3	42.160	14.053	8.14	0.016
PreTr*Salmuera	3	3.757	1.252	0.73	0.573

El pre-tratamiento, por sí solo, no afectó el WHC (Tabla-8) y, aunque hubo un efecto significativo de la salmuera, la interacción pre-tratamiento x salmuera no lo fue (Tabla-9). Al examinar más detalladamente los datos, se observó que la salmuera tuvo un efecto significativo sobre la capacidad de retención de agua. Sin embargo, al comparar las medias de los diferentes tratamientos, no se observaron diferencias significativas entre ellas, debido a la interacción con el pre-tratamiento. Se ha demostrado que la adición de sal a las carnes aumenta la ternura y la jugosidad debido a que la sal solubiliza las proteínas promoviendo la retención del agua libre (Gregory, 1998; Desmond, 2006; Tarte, 2009).

Tabla-10 Efecto en el WHC el tiempo y sus combinaciones.

Combinación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de los Cuadrados	Valor F	Pr > F
Tiempo	2	0.987	0.494	0.20	0.824
PreTr*Tiempo	2	0.440	0.220	0.09	0.917
Salmuera*Tiempo	6	2.123	0.354	0.14	0.989
PreTr*Salmuer*Tiempo	6	2.411	0.402	0.16	0.984

Tabla-11 Efecto en el WHC de las diferentes combinaciones de cortes y tratamientos experimentales.

Combinación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de los Cuadrados	Valor F	Pr > F
Corte	2	2.458	1.229	3.25	0.048
PreTr*Corte	2	0.548	0.274	0.72	0.490
Salmuera*Corte	6	3.420	0.570	1.51	0.196
Tiempo*Corte	4	0.676	0.169	0.45	0.774
PreTr*Salmuera*Corte	6	3.173	0.529	1.40	0.235
PreTr*Tiempo*Corte	4	1.060	0.265	0.70	0.595
PreT*Salm*Tiem*Corte	24	9.721	0.405	1.07	0.408

Se pudo observar que el tiempo realmente no tuvo influencia en esta etapa ya que éste fue aplicado luego de haberse hecho la lectura de WHC (Tabla-10). Previamente se resaltó que, según el corte, el pH podría diferir debido a la capacidad glicolítica de los tejidos. La Tabla-11 muestra cómo el corte afecta la retención de agua, posiblemente debido a los diferentes procesos de fosforilación oxidativa y glicolisis que ocurren en los músculos. Los músculos de la parte roja pasan por procesos de fosforilación oxidativa manteniendo un pH alto y evitando, por tanto, la pérdida de agua por acidificación de los tejidos. En cambio los músculos de la parte blanca de la carne pasan por una actividad glicolítica, que promueve una deposición de ácido láctico en los tejidos, causando una rápida acidificación de los tejidos y, por tanto, una posible pérdida de capacidad de retención de agua (Ouhayoun, 1993).

Tabla-12 El efecto del pre-tratamiento en el WBS.

Combinación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de los Cuadrados	Valor F	Pr > F
PreTr	1	8.463	8.463	8.38	0.102

El pre-tratamiento no tuvo efecto significativo sobre el WBS (Tabla-12). Esta variable no podía causar efecto en la terneza ya que no existió la opción de trabajar en el experimento sin el pre-tratamiento y, por tanto, no ejerció influencia en los resultados. El programa estadístico ANOVA no discrimina en cuanto a variable dentro del experimento solamente observa interacciones.

Tabla-13 Efecto de la salmuera en el WBS.

Combinación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de los Cuadrados	Valor F	Pr > F
Salmuera	3	1.958	0.653	0.62	0.630
PreTr*Salmuera	3	3.761	1.254	1.18	0.392

El tipo de salmuera utilizada no afectó la terneza de la carne (Tabla-13). Esto es consistente a lo observado por Bianchi et al. (2009), en donde les aplicaron diferentes tratamientos de marinado a pollos. Sus resultados reportados no mostraron una diferencia significativa entre tratamientos de marinado.

Tabla-14 Efecto en el WBS de las diferentes combinaciones de tiempo y tratamientos experimentales.

Combinación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de los Cuadrados	Valor F	Pr > F
Tiempo	2	0.381	0.191	0.28	0.759
PreTr*Tiempo	2	1.282	0.641	0.94	0.410
Salmuera*Tiempo	6	2.801	0.467	0.69	0.664
PreTr*Salmuer*Tiempo	6	16.339	2.723	4.00	0.012

Se observó una interacción significativa entre pre-tratamiento, tipo de salmuera y tiempo de pre-procesado sobre la terneza (Tabla-14). Los resultados obtenidos nos

muestran que los diferentes tiempos de cocción cambian la ternura de los tejidos y facilitan el intercambio de agua.

Tabla-15 Efecto en el WBS de las diferentes combinaciones de cortes y tratamientos experimentales.

Combinación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de los Cuadrados	Valor F	Pr > F
Corte	2	0.588	0.294	0.40	0.671
PreTr*Corte	2	56.702	28.351	38.76	<.0001
Salmuera*Corte	6	3.225	0.538	0.73	0.624
Tiempo*Corte	4	1.565	0.391	0.53	0.711
PreTr*Salmuera*Corte	6	7.710	1.285	1.76	0.128
PreTr*Tiempo*Corte	4	1.835	0.459	0.63	0.645
PreT*Salm*Tiem*Corte	24	8.788	0.366	0.50	0.965

La Tabla-15 muestra la interacción significativa entre cortes y pre-tratamiento. Cabe destacar que el cocido afecta cada corte en forma diferente debido a que cada uno de ellos tiene sus características particulares que inciden en la retención de agua. Según reportado en la literatura, los músculos que componen la parte roja de la carne de conejo tienen una mejor irrigación, contienen una mayor cantidad de fosfolípidos, grasa intracelular y un menor diámetro de las fibras musculares. Esto le promueve una mayor jugosidad y sabor (Ouhayoun y Dalle, 1993).

b. Determinación de los valores de D y Z para *Geobacillus stearothermophilus* en el alimento.

Se realizaron varias curvas de crecimiento (Figura-1), en donde se determinó que el *Geobacillus stearothermophilus* llegaba a la etapa estacionaria a partir de la cuarta hora. Estudios previos han reportado el crecimiento exponencial de *Geobacillus*

stearotherophilus a 600 nm (Min et al., 1988). En nuestro caso, éste alcanza hasta 700 nm, pero se vuelve estacionario a 600 nm.

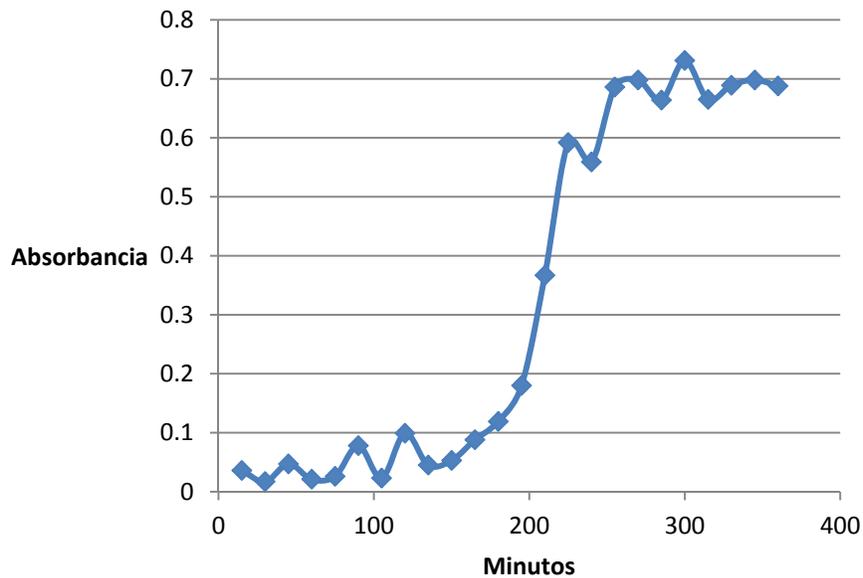


Figura-1 Curva de crecimiento de *Geobacillus stearotherophilus* en condiciones óptimas a 60°C.

Luego, se tomaron los inóculos y se depositaron en el medio a temperaturas de 85°C (Figura-2), de 95°C (Figura-3) y de 100°C (Figura-4) para calcular el valor D correspondiente y, posteriormente, el valor de Z. Según se ilustra en la Figura-5, el valor de Z encontrado fue de 38.6. Se encontró una población microbiana de 4 logaritmos equivalente a 10^4 a una temperatura de 85°C. Eso quiere decir que el tiempo de esterilización se debe de llevar hasta 5 D para así eliminar todos los microorganismos hábiles.

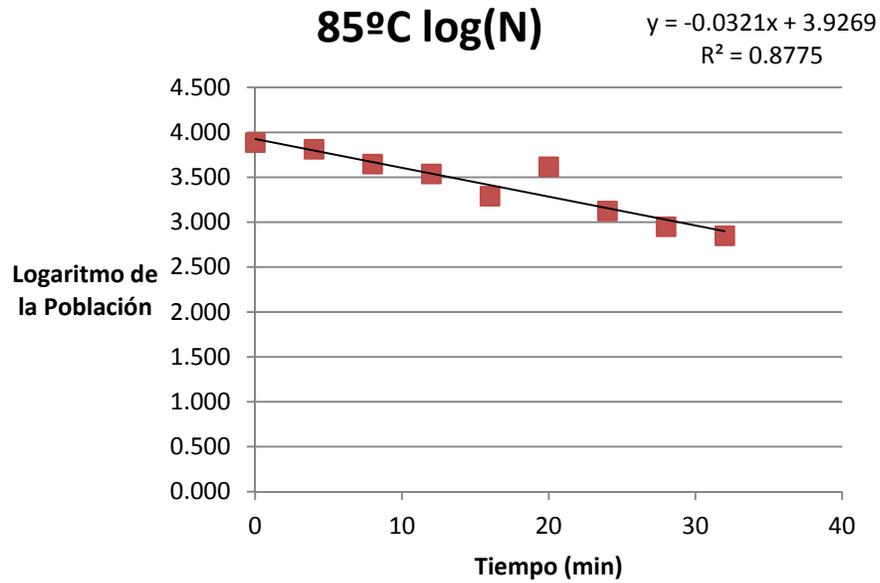


Figura-2 Gráfica para la determinación del valor D a 85°C en el medio.

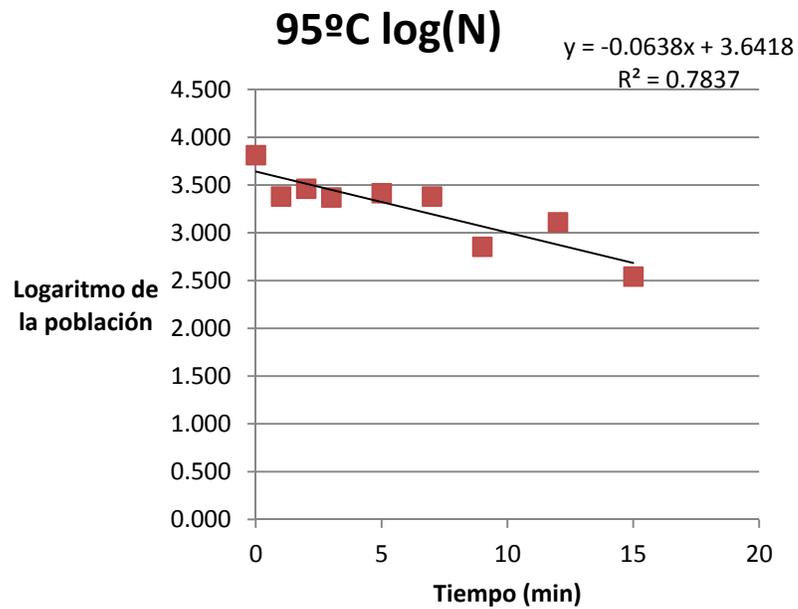


Figura-3 Gráfica para la determinación del valor D a 95°C en el medio.

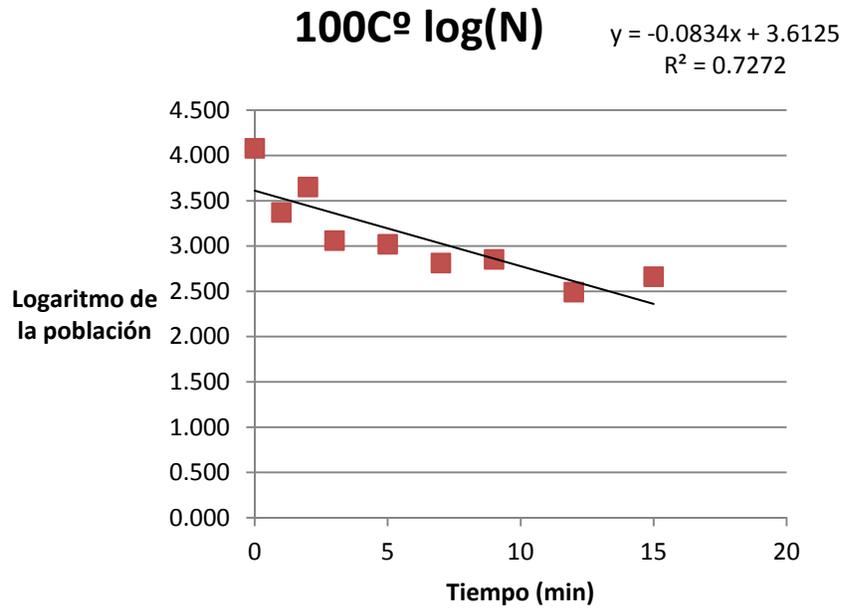


Figura-4 Gráfica para la determinación del valor D a 100°C en el medio.

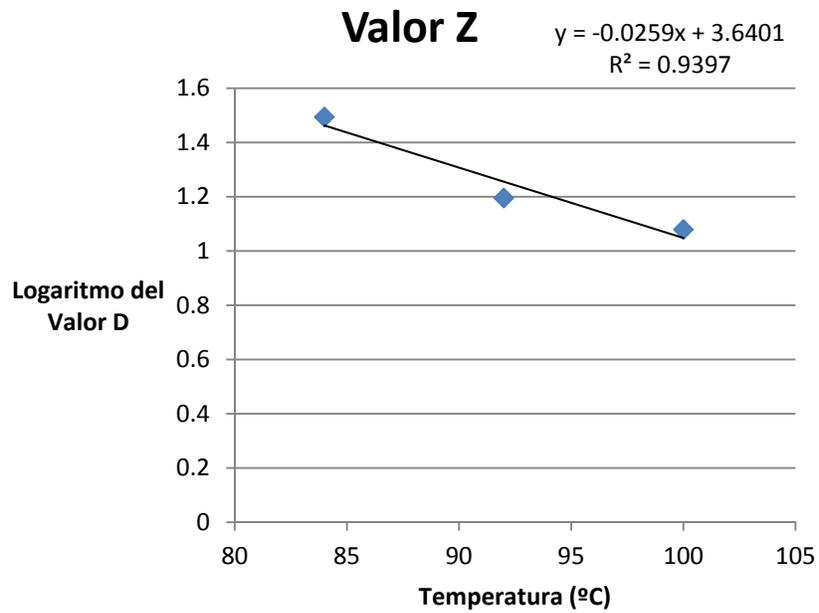


Figura-5 Gráfica para la determinación del valor de Z.

Eliminar un logaritmo de la población tomó 31 minutos a temperatura constante. Por tanto, si se quiere eliminar la población total presente en el medio es necesario aplicar 85°C por 155 minutos. Si se le aplican 39°C a 85°C, según el valor calculado de Z, entonces se estima un tratamiento de 124°C por 15.5 minutos. En estudios previos con espárragos enlatados, se ha encontrado un tiempo de procesado a 250°F por 14.2 min (Lin et al., 1968). En otros estudios realizados en habichuelas de aceite africanas, se ha encontrado un valor de D a 110°C de 12 minutos (Enujiugha y Akanbi, 2010).

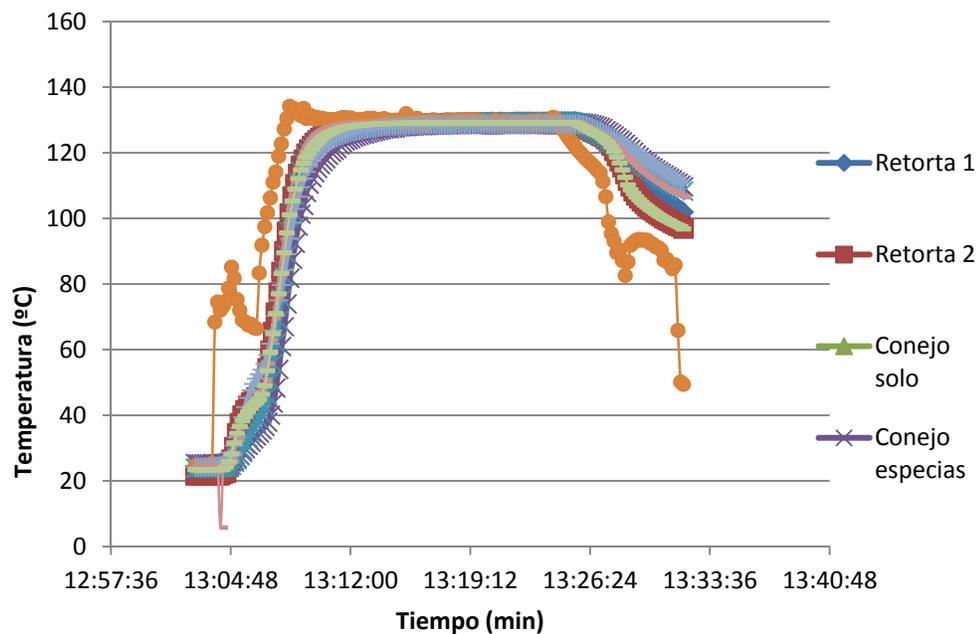


Figura-6 Diagrama del Procesado Térmico.

En la Figura-6 se observa el procesamiento térmico luego de haber calculado el valor de Z. La gráfica muestra las tres etapas típicas en un proceso de esterilización comercial: el “come up time”, el tratamiento térmico y el enfriamiento. El enlatado fue realizado manualmente y todo el proceso se llevó a cabo en una retorta estacionaria (véanse los Apéndices 17 y 18).

c. Análisis microbiológico y proximal del contenido de las latas.

Luego de haber realizado el tratamiento, se incubaron las latas con su contenido por tres meses a temperatura ambiente. Posteriormente se procedieron a muestrear mensualmente y en duplicado las latas para determinar presencia o ausencia de microorganismos (Apéndice 15). Los resultados obtenidos se encuentran presentados en la Tabla-16 y la Tabla-17.

Tabla-16 Resultados de los muestreos a las latas a 55°C. DBT: Dextrose Triptone Broth; MCMM: Modified Cook Meat Medium.

Fecha del muestreo	Medio	Control +	Control -	Muestra 1	Muestra 2
14-11-12	DTB	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
14-11-12	MCMM	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
14-12-12	DTB	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
14-12-12	MCMM	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
14-01-13	DTB	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
14-01-13	MCMM	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Tabla-17 Resultados de los muestreos a las latas a 35°C. DBT: Dextrose Triptone Broth; MCMM: Modified Cook Meat Medium.

Fecha del muestreo	Medio	Control +	Control -	Muestra 1	Muestra 2
14-11-12	DTB	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
14-11-12	MCMM	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
14-12-12	DTB	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
14-12-12	MCMM	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
14-01-13	DTB	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
14-01-13	MCMM	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Se pudo observar que el crecimiento del *Geobacillus stearothermophilus* en el control positivo fue efectivo en el DTB a 55°C. Sin embargo, el crecimiento a 35°C en el mismo medio DTB no fue efectivo. Esto pudo deberse a que el *Geobacillus* tiene una

temperatura mínima de crecimiento de 45°C. El MCMM tampoco permite el crecimiento amplio de este microorganismo debido a que contiene una cantidad considerable de tioglicolato, que reduce el oxígeno presente. Esta condición de crecimiento no existe en el enlatado consistentemente ya que ocurren condiciones anaeróbicas, pero aún se puede encontrar un poco de oxígeno disuelto (Rosero, 2006).

Tabla-18 Promedios de los Análisis Proximales en los conejos seleccionados.

Tipo de Análisis	Promedio Por ciento	Desviación Estándar
Proteína	19.06%	1.69
Grasa	1.00%	0.72
Humedad	75.32%	0.96
Ceniza	4.62%	0.01

Tabla-19 Promedios de los Análisis Proximales en las Latas Seleccionadas.

Tipo de Análisis	Promedio Por ciento	Desviación Estándar
Proteína	12.28%	1.065
Grasa	7.34%	0.57
Humedad	76.75%	0.085
Ceniza	3.63%	0.41

Los resultados de los análisis proximales (Tabla-18 y Tabla-19) se asemejan a los reportados en la literatura para la carne de conejos (Apéndice 16). Se han reportado valores para proteína de 18.1% a 23.7%, para grasa de 0.6% a 14.4% y para humedad de 66.2% a 75.3%. En nuestro caso, la proteína alcanzó en un promedio de 19%, la grasa de 1% y la humedad alcanzó un 75%. Sin embargo, en el enlatado la proteína fue la más baja, mientras que la grasa y la humedad fueron un poco más altas. Esto pudo deberse a que la carne de conejo, en el enlatado, se envasó con caldo aumentando así la humedad al igual que incorporó grasas diluidas en este por el calor producido. Durante el pre-cocido la grasa

de los tejidos sale y se incorpora al caldo aumentando por tanto las proporciones de estas partes en el análisis proximal (Dalle, 2002).

V. Conclusiones

La investigación se enfocó en el desarrollo de un tratamiento de esterilización comercial a partir de *Geobacillus stearothermophilus*. La misma constó de varias fases, en donde la primera fase se enfocó en determinar cuál era el mejor pre-tratamiento a ser utilizado para la carne a enlatar. La segunda fase se basó en elaborar el tratamiento de esterilización comercial a partir del microorganismo seleccionado. Por último, en la tercera fase se le aplicó el tratamiento de esterilización comercial y se determinó su validez. En todos los conejos, el pH de la carne de las patas delanteras fue mayor debido a que pasa por un proceso de fosforilación oxidativa, según ha sido reportado en la literatura. En cambio en el lomo, el pH fue menor, debido a la actividad glicolítica. Sin embargo la capacidad de retención de agua fue mayor en el lomo, contrario a lo reportado hasta ahora en la literatura. Esto pudo haber sido debido al rápido congelamiento de la canal, que redujo la actividad glicolítica que promueve la deposición de lactato, el cual produce acidez en los tejidos. La salmuera también influyó en la retención de agua, pero no causó cambios significativos entre los tratamientos aplicados a la carne de conejo.

La pre-cocción (luego de la salmuera) causó un alza significativa en la terneza debido a la hidratación de los tejidos, pero por un tiempo determinado. El pre-tratamiento más efectivo fue la combinación de 50 minutos de pre-cocido y 14% de salinidad de la salmuera. Esto pudiera deberse a que por encima de ese tiempo, los tejidos se sobre cocinan y endurecen demasiado comprometiendo la terneza, mientras que debajo de los 50 minutos, la carne queda sin cocinar y no puede ser deshuesada.

Por último, si deseamos disminuir por un logaritmo el crecimiento microbiano en el enlatado, entonces se recomendaría aplicar un valor de Z de 39°C. De esta manera, se

promueve un tratamiento de esterilización de 124°C por 15.5 minutos. El tratamiento de esterilización aquí empleado fue efectivo ya que no se encontró ningún microorganismo en el producto enlatado.

VI. Recomendaciones

1. Tomar lecturas de pH en el conejo justo después de la matanza, posteriormente, luego del rigor mortis y ver el cambio real en pH según la pieza.
2. Elaborar el tratamiento de esterilización a partir de suspensiones de esporas.
3. Utilizar otro microorganismo anaerobio como *Clostridium sporogenes* para desarrollar el tratamiento de esterilización comercial.
4. Evaluar cuál es el tipo de flora microbiana prevaleciente entre los conejos vivos y muertos en Puerto Rico.
5. Evaluar diferentes aditivos en la dieta y ver como esto promueve la estabilidad de la carne enlatada.
6. Llevar a cabo un tratamiento de esterilización utilizando aceites en vez de caldos.
7. Verificar si los componentes de las especias, conocidos como bactericidas, son liberados durante el almacenamiento.

VII. Bibliografia

Alasnier, C., Remignon, H., Gandemer, G. 1996. Lipid characteristics associated with oxidative and glycolytic fibres in rabbit muscles. *Meat Sci.* 43, 213-224.

André, S., Zuber, F., Remize, F. 2013. Thermophilic spore-forming bacteria isolated from spoiled canned food and their heat resistance. Results of a French ten-year survey *Int. J. Food Micro.* 165, 134–143.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) Método 960.39.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) Método 991.20.

Badr H.M. 2004. Use of irradiation to control foodborne pathogens and extend the refrigerated market life of rabbit meat. *Meat Sci.* 67, 541-548.

Bernardini, M., Dal Bosco, A., Castellini, C. 1999. Effect of dietary n-3/n-6 ratio on fatty acid composition of liver, meat and perirenal fat in rabbit. *Animal Sci.* 68, 647-654.

Berruga, M.I., Vergara, H., Linares, M.B. 2005. Control of microbial growth and rancidity in rabbit carcasses by modified atmosphere packaging. *J. Sci. Food Agric.* 85, 1987-1991.

Bianchi, M., Petracchi, M., Cavani, C. 2006. Effects of dietary inclusion of dehydrated lucerne and whole linseed on rabbit meat quality. *World Rabbit Sci.* 14, 247-258.

Bianchi, M., Petracchi, M., Cavani, C. 2009. The use of marination to improve poultry meat quality. *Italian J. Animal Sci.* 8 (Suppl. 2), 757-759.

Bobbitt, J. 2002. Self-life and microbiological safety of selected new and emerging meats destined for export markets. Rural Industries Research and Development Corporation, Publ. no. 02-038.

Cavani, C., Petracchi, M. 2009. Qualità della carne di coniglio. In: I. Romboli, M. Marzoni Fecia di Cossato, A. Schiavone, L. Zaniboni, S. Cerolini (eds.) *Avicoltura e Conigliicoltura*. Point Veterinaire Italie, Milano, pp.503-517.

Castellini, C., Dal Bosco, A., Cardinali, R., Mugnai, C., Sciascia, E. 2004. Effect of dietary n-3 fatty acids on the composition of doe's milk and tissues of suckling rabbits. In Proc. 8th World Rabbit Congress, 2004 September, Puebla, Mexico, 771-777.

Castellini, C., Dal Bosco, A., Bernardini, M. 2000. Improvement of lipid stability of rabbit meat by vitamin E and C administration. *J. Sci. Food Agric.* 81, 46-53.

Castellini, C., Dal Bosco, A., Bernardini, M. 1999. Effect of dietary vitamin E supplementation on the characteristics of refrigerated and frozen rabbit meat. *Italian. J. Food Sci.* 11, 151-160.

Codex. 1993. *Recommended International Code of Hygiene Practice for Low Acid and Acidified Low Acid Canned Foods. CRC/RCP 23-1979, Rev. 2.* Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Colin, M., Raguenes, N., Le Berre, G., Charrier, S., Prigent, A.Y., Perrin, G. 2005. Influence d'un enrichissement de l'aliment en acides gras omega 3 provenant de graines de lin extrudees (Tradi -Lin®) sur les lipides et les caracteristiques de la viande de lapin. In *Proc. Hem' Journees Recherche Cunicole*, November, Paris, France, 163-166.

Comas, M. 2010. Pequeños Rumiantes y Conejos. IBA 2009, In press.

Combes, S. 2004. Valeur nutritionnelle de la viande de lapin. *INRA Productions Animales*, 17, 373-383.

Coni E., Benedetto R., Pasquale M., Masella R., Modesti D., Mattei R., Carlini E.A. 2000. Protective effect of oleuropein, an olive oil biophenol, on low lipoprotein oxidizability in rabbits. *Lipids.* 35, 45-54.

Corry, J.E.L. 1974. The effect of sugars and polysols on the heat resistance of Salmonellae. *J. Appl. Bacteriol.* 37, 31-43.

Dal Bosco, A., Castellini, C., Bianchi, L., Mugnai, C. 2004. Effect of dietary oc-linolenic acid and vitamin E on the fatty acid composition, storage stability and sensory traits of rabbit meat. *Meat Sci.* 66, 407-413.

Dalle-Zotte, A. 2004. Dietary advantages: rabbit must tame consumers. *Viandes et Produits Carnes*, 23, 161-167.

Dalle-Zotte, A. 2002. Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Rev. Living Prod. Sci.* 75, 11-32.

Dalle-Zotte, A., Cossu, M.E., Parigi-Bini, R. 2000. Effect of the dietary enrichment with animal fat and vitamin E on rabbit meat shelf life and sensory properties. *International Proceedings 46th ICoMST*, August-September, Buenos Aires, Argentina, 4.II-P8.

Desmond, E. 2006. Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Sci.* 74, 188-196.

Diplock, A.T., Aggett, P.J., Ashwell, M., Bornet, F., Fern, E.B., Roberfroid, M.B. 1999. Scientific concept of functional foods in Europe: Consensus document. *Br. J. Nutr.* 81, S1-S27.

Elmer, H.M. 1998. Extended shelf-life refrigerated foods: Microbiological quality and safety. *Food Tech.* 52, 57-62.

Enser, M., Hallet, K., Hewitt, B., Fursey, G.A.J., Wood, J.D. 1996. Fatty acid content and composition of English beef, lamb, and pork at retail. *Meat Sci.* 4, 443-456.

Enujiugha, V.N., Akanbi, C.T. 2010. Optimization of Canning Process Conditions for Fermented African Oil Bean (*Pentaclethra macrophylla* Benth) Seeds in Three Different Media. *Agric. Eng. Int.: CIGR Journal.* 12, 95-103.

Gigaud, V., Combes, S., 2008. The effect of decreasing the omega 6/omega 3 ratio in feed on fatty acid content of rabbit meat to meet human dietary recommendations. *Proc. 9th World Rabbit Congress*, Verona, Italy, pp. 1353-1357.

Gill C.O., McGinnis J.C., Bryant J. 1998. Microbial contamination of meat during the skinning of beef carcass hindquarters at three slaughtering plants. *Int. J. Food Microbiol.* 42, 175-184.

GMA, Science and Education Foundation Séptima Edición (2007). Alimentos Enlatados.

Gregory, N. G. 1998. *Animal Welfare and Meat Science*. New York, CAB International.

Hernández, P., 2008. Enhancement of nutritional quality and safety in rabbit meat. pp1287-1299 in Proc. 9th World Congress of Rabbit, Verona, Italy.

Hernandez P., Cesari V., Pla M. 2007. Effect of the dietary fat on fatty acid composition and oxidative stability of rabbitmeat. *Proc. 53'd International Congress of Meat Science and Technology*, August, Beijing, China, pp. 367-370.

Hernandez, P., Gondret, F. 2006. Rabbit Meat Quality. In: Maertens L., Coudert P. (Eds.). *Recent Advances in Rabbit Sciences*. ILVO, Merelbeke, Belgium, 269-290.

Irie, M., A. Izumo and S. Mohri, 1996. Rapid method for determining water-holding capacity in meat using video image analysis and simple formulae. *Meat Sci.* 42, 95-102.

ISSFAL 2004. International society for the study of fatty acids and lipids. Report of the Sub-Committee on "Recommendations for intake of polyunsaturated fatty acids in healthy adults". <http://www.issfal.org.ukt>.

Jansen, M.L. 2001. Determination of meat pH-temperature relationship using ISFET and glass electrode instruments. *Meat Sci.* 58, 145-150.

Jay, J.M. 2000. *Modern Food Microbiology*, sixth ed. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, MD.

Jay, J.M., 1964. Relationship Between Water-Holding Capacity of Meats and Microbial Quality. *Appl. Microbiol.* 13, 120-121.

Kouba, M., Benatmane, F., Blochet, J.E., Mourot, J. 2008. Effect of linseed diet on lipid oxidation, fatty acid composition of muscle, perirenal fat, and raw and cooked rabbit meat. *Meat Sci.* 80, 829-834.

Lee, Y.C., Ahn, H.S. 1977. Studies on lipids and proteins of rabbit meat. I. Emphasis of lipid components of rabbit meat. *Korean J. Nutr.* 10, 78-82.

Levison, H., Hyatt, M. 1964. Effect of Sporulation Medium on Heat Resistance, Chemical Composition, and Germination of *Bacillus megaterium* Spores. *J. Bacteriol.* 87, 876-886.

Lin, C., Wu, B., Lin, D. 1968. Spoilage bacteria in canned foods. I. Flat sour spoilage bacteria in canned asparagus and the thermal death time. *Appl. Microbiol.* 16, 45-47.

Lo Fiego D.P., Santero P., Macchioni P., Mazzoni D., Piattoni F., Tassone F., De Leonibus E. 2004. The effect of dietary supplementation of vitamins C and E on the α -tocopherol content of muscles, liver and kidney, on the stability of lipids, and on certain meat quality parameters of the longissimus dorsi of rabbits. *Meat Sci.* 67, 319-327.

López-Bote C., Rey A.I., Sanz M., Gray J.I., Buckley D.J. 1997. Dietary vegetable oils and α -tocopherol reduce lipid oxidation in rabbit muscle. *J. Nutr.* 127, 1176-1182.

Maertens, L., Huyghebaert, G., Delezie, E., 2008. Fatty acid composition of rabbit meat when fed a linseed based diet during different periods after weaning. *Proc. 9th World Rabbit Congress*, Verona, Italy, pp. 1381-1385

Martínez, P., Abriouel, H., Ben Omar, N., López, R. L., Valdivia, E., Gálvez, A. 2009. Inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* in canned food and coconut milk samples by addition of enterocin AS-48. *Food Microbiol.* 26, 289–293.

McGee, H 1995. For Cookery, Sensory Evaluation and Instrumental Tenderness Measurements of Fresh Meat, *American Meat Science*.

Mendoza, B., Sanchez, I., Zuñiga, A., Castro, J., Santos, E.M. 2007. Seguimiento microbiológico de la conservación de carne de conejo envasada al vacío. *Memorias del 9º Congreso Internacional Inocuidad de Alimentos*, México, pp. 51.

Monahan, F. 2000. Oxidation of lipids in muscle foods: Fundamental and applied concerns. In: Decker E., Faustman F., Lopez-Bote C. (Eds). *Antioxidants in muscle foods*. Wiley & Sons, Inc. Publication, New York, USA, 3-23.

Muñiz, M.A., Pro, A., Becerril, C.M., Sosa, E., Ramos, N.A., Gallegos, J., Hernandez, O. 2004. Fatty acids omega-3 in milk of rabbits does fed common vetch and sardine oil. *International Proceedings, 8th World Rabbit Congress*, September, Puebla, Mexico, pp. 922-927.

NACMCF 2010. Parameters for Determining Inoculated Pack / Challenge Study Protocols. *J. Food Prot.* 73, 140–202.

Nevas, M., Korhonen, A., Lindstrom, M., Turkki, P., Korkeala, H. 2004. Antibacterial efficiency of Finnish spice essential oils against pathogenic and spoilage bacteria. *J. Food Prot.* 67, 199-202.

Ng, H., Bayne, H., Garibaldi, J. 1969. Heat Resistance of *Salmonella*: the Uniqueness of *Salmonella senftenberg* 775W. *Appl. Microbiol.* 17, 78-82.

Ouhayoun, J., Dalle Zotte, A. 1993 Muscular energy metabolism and related traits in rabbits. A review. *World Rabbit Sci.* 3, 97-108.

Peiretti, P.G., Meineri, G., 2008. Effects on growth performance, carcass characteristics, and the fat and meat fatty acid profile of rabbits fed diets with chia (*Salvia hispanica* L.) seed supplements. *Meat Sci.* 80, 1116-1121.

Prevost, S., Andre, S., Remize, F. 2010. PCR Detection of Thermophilic Spore-Forming Bacteria Involved in Canned Food Spoilage. *Curr. Microbiol.* 61, 525–533.

Ramirez J.A., Diaz, I., Pla, M., Gil, M., Blasco, A., Oliver, M.A. 2005. Fatty acid composition of leg meat and perirenal fat of rabbits selected by growth rate. *Food Chem.* 90, 251-256.

Richmond, B., Fields, M.L. 1966. Distribution of Thermophilic Aerobic Sporeforming Bacteria in Food Ingredients¹. *Appl. Microbiol.* 14, 623–626.

Riquelme, E. 2009. Apuntes de Cunicultura.

Rodríguez-Calleja, J.M., García-López, M.L., Santos, J.A., Otero, A. 2005. Development of the aerobic spoilage flora of chilled rabbit meat. *Meat Sci.* 70, 389-394.

Sales, J., Hayes, J. P. 1996. Proximate, amino acid and mineral composition of ostrich meat. *Food Chem.* 56, 167-170.

Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. 1996 Antimicrobial and cytotoxic activities of oreganum essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 44, 1202-1205.

Simonová, M.P., Chrastinová, L., Mojto, J. 2010. Quality of Rabbit Meat and Phyto-Additives. *Czech J. Food Sci.* 28, 161–167.

Simonova, M., Chrastinova, L., Stromppova, V., Faix, S., Vasilkova, Z., Laukova, A., Rafay, J. 2008. Effect of *Enterococcus faecium* EF2019 strain and its bacteriocin in digestive tracts of rabbits. *World Rabbit Sci.* (In press).

Soultos, N., Tzikas, Z., Christaki, E., Papageorgiou, K., Steris, V. 2009. The effect of dietary oregano essential oil on microbial growth of rabbit carcasses during refrigerated storage. *Meat Sci.* 81, 474-478.

Sugiyama, H. 1952. Symposium on the biology of bacterial spores. Part VII. Effect of fatty acids on the heat resistance of *Clostridium botulinum* spores. *Bacteriol. Rev.* 16, 125-126.

Strakova, E., Suchy, P., Vitula, F., Vecerek, V. 2006. Differences in the amino acid composition of muscles from pheasant and broiler chickens. *Archiv fur Tierzucht*, 49, 508-514.

Tarté, R. 2009. *Ingredients in Meat Products: Properties, Functionality and Applications.* New York, Springer.

USDA/FSIS 1998. *Microbiology Laboratory Guidebook*, 3rd Edition.

Vannini, L., Sado, S., Iucci, L., Ndagijimana, M., Guerzoni, M.E. 2003. The dietary use of linseed in growing rabbits: effects on microbial population and spoilage patterns of meat products. In Proc. 3rd Meeting Working Group 4 "Nutrition and pathology" and 5 "Meat quality and safety" *COST Action 848*, September, Prague, Czech Republic, pp. 32-33.

Vergara, H., Berruga, I., Linares, B. 2005. Effect of gas composition on rabbit meat quality in modified atmosphere packaging. *J. Sci. Food Agric.* 85, 1981-1986.

Zhang, M., Nakai, H., Imanaka, T. 1988. Useful Host-Vector Systems in *Bacillus stearothermophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 3162-3164.

VIII. Apéndices

Apéndice 1. Conejo de la familia Leporidae



Apéndice 2. Conejo de la familia Ochotonidae



Apéndice 3. Conejo Rex



Apéndice 4. Conejo Angora



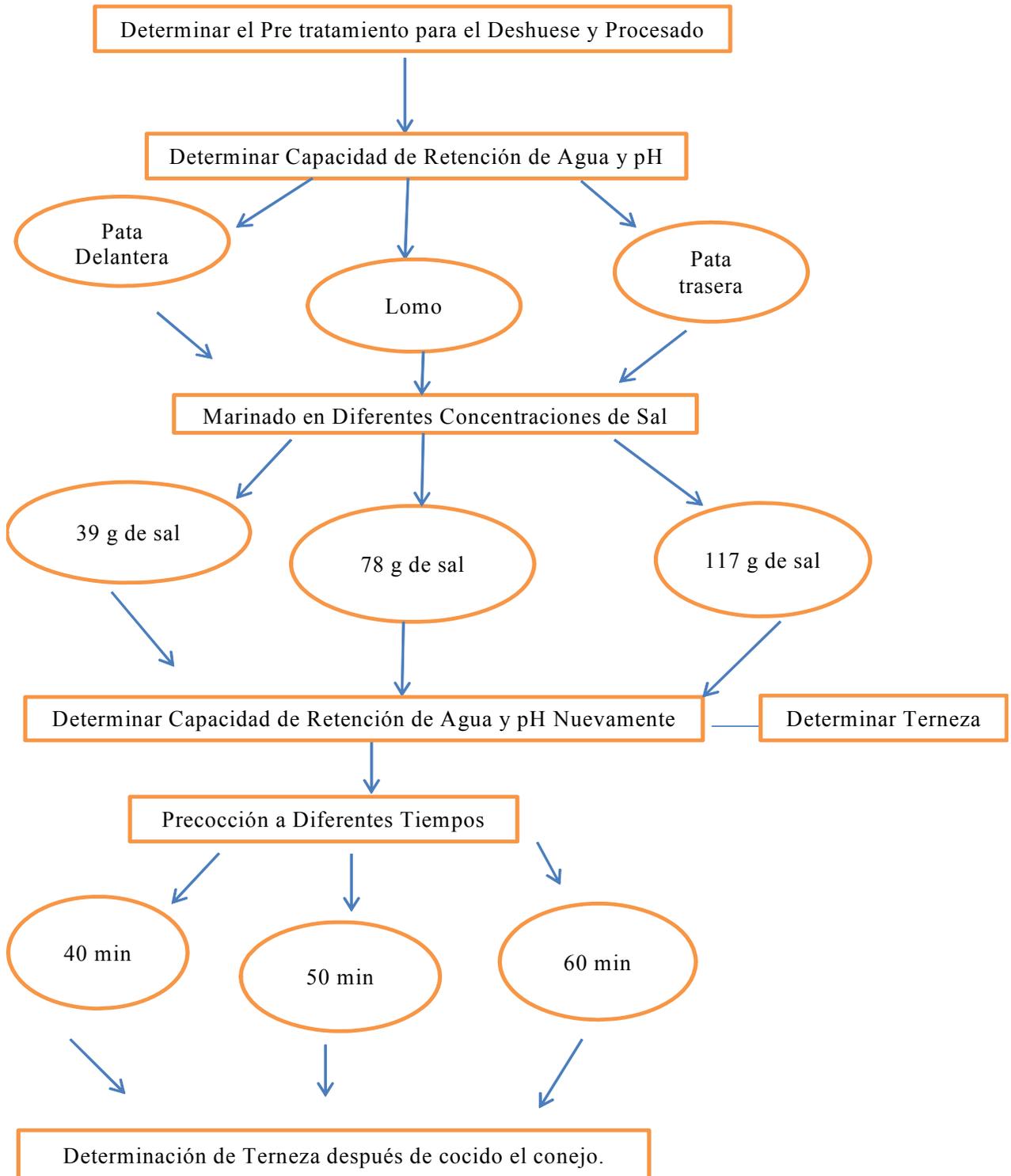
Apéndice 5. Conejo Nueva Zelanda



Apéndice 6. Conejo California



Apéndice 7. Flujograma Primera Fase del Experimento



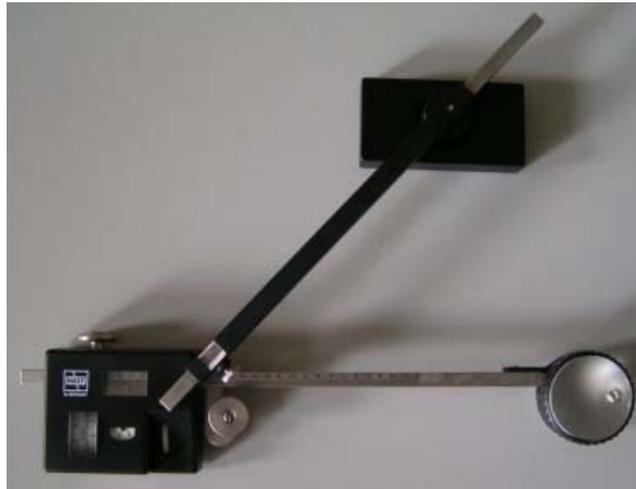
Apéndice 8. DOC-pH Meter Sartorius



Apéndice 9. Prensa Carver, modelo 212041



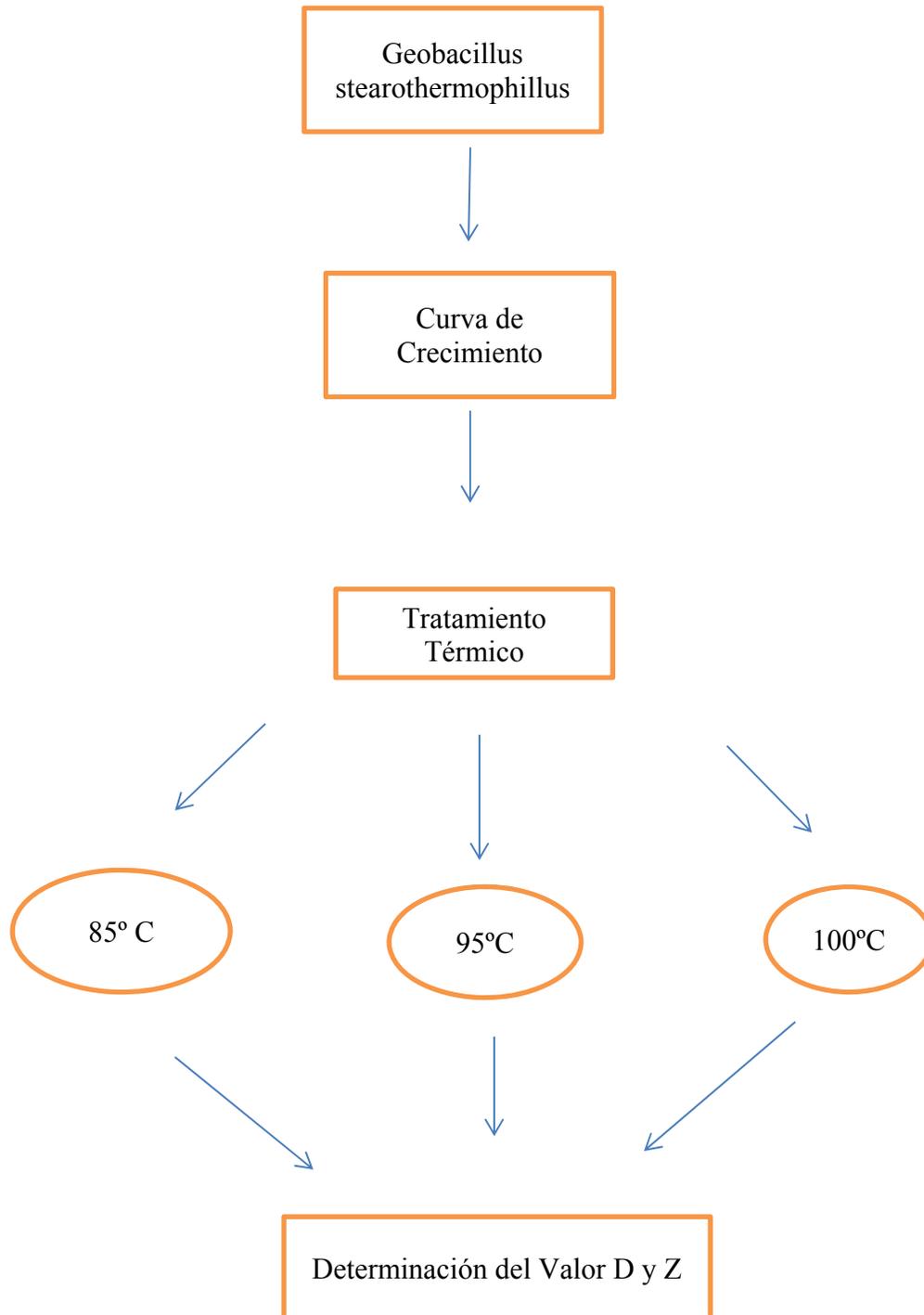
Apéndice 10. Planímetro Polar



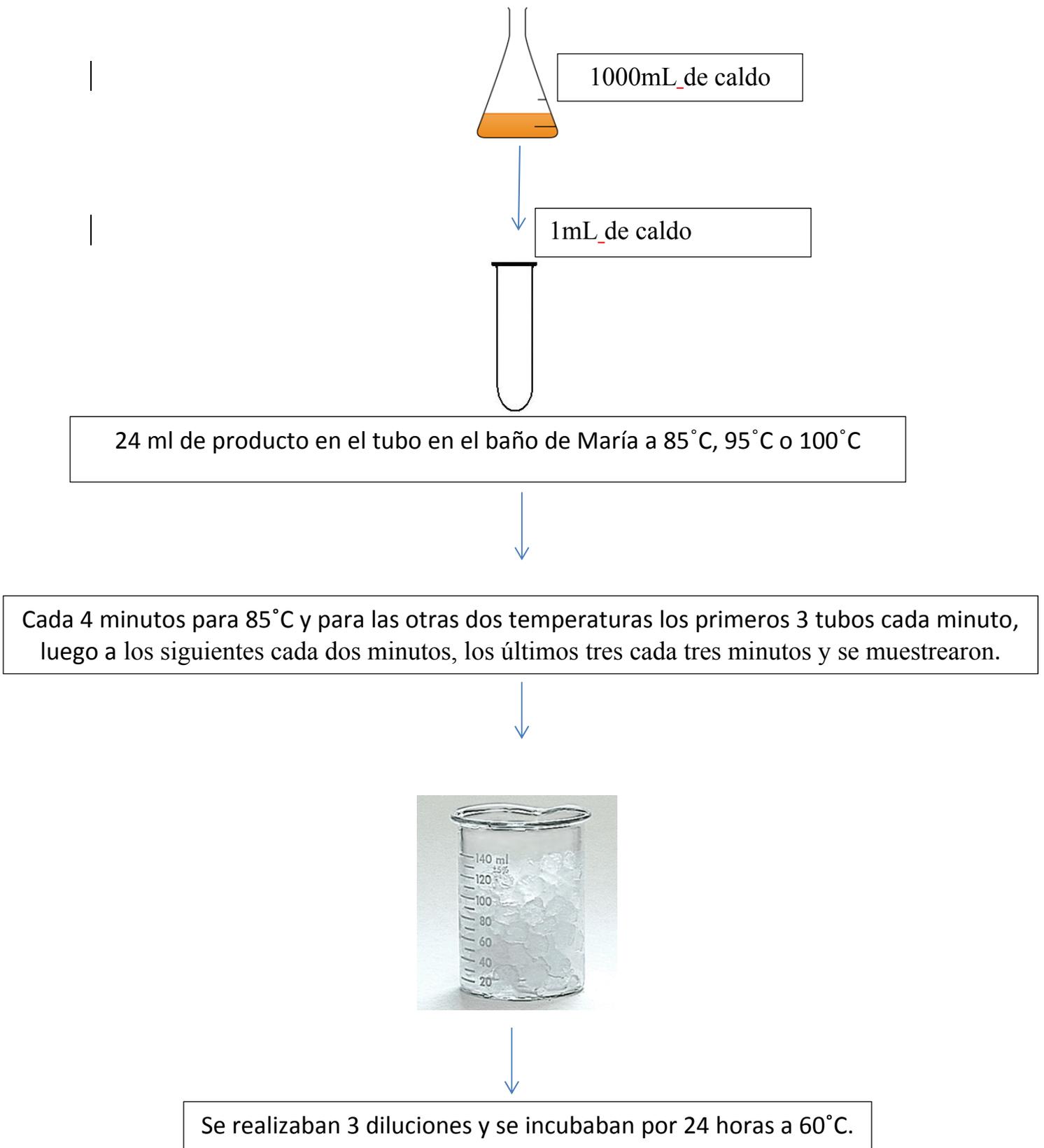
Apéndice 11. Warner Bratzler Shear Force, marca Salter, modelo 3000



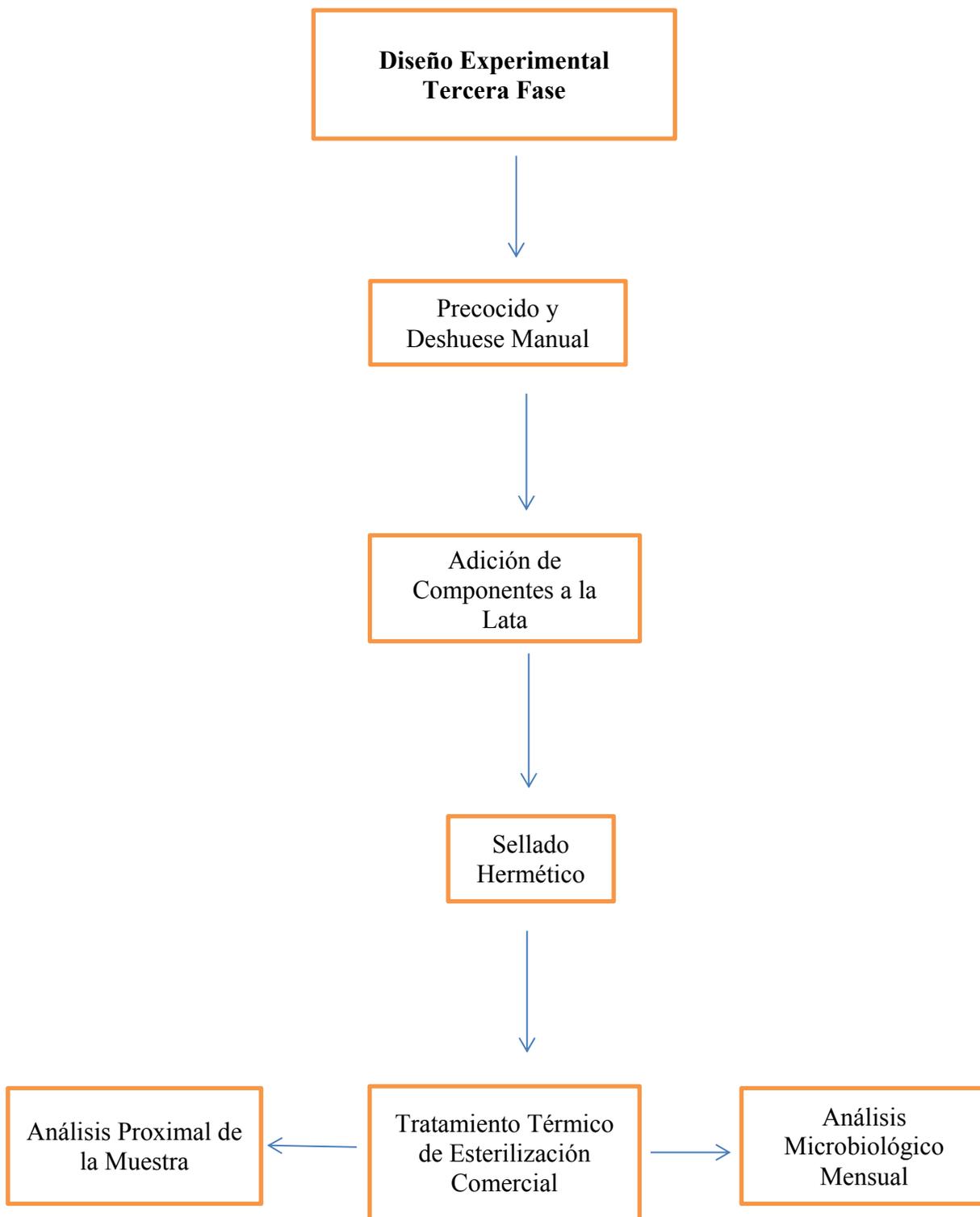
Apéndice 12. Flujograma Segunda Fase Experimental



Apéndice 13. Diagrama del experimento para determinar Valores de D y Z



Apéndice 14. Flujograma Tercera Fase del Experimento



Apéndice 15. Muestras de Microbiología



Apéndice 16. Máquina para determinar grasa Soxhlet



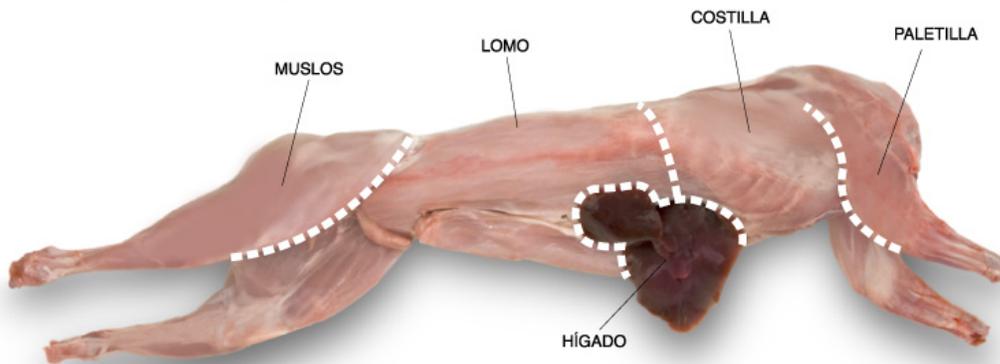
Apéndice 17. Máquina Enlatadora



Apéndice 18. Retorta Estacionaria



Apéndice 19. Diferentes cortes de la canal de conejo utilizados para la tesis



Tomado de <http://www.grupohermi.com/wp/wp-content/uploads/2011/11/Esquema-conejo2.jpg>.