

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**Trabajo Final de Graduación bajo la modalidad de Tesis para optar por el Grado de
Licenciatura en Ingeniería de Alimentos.**

**Estudio de almacenamiento de carne molida de conejo (*Oryctolagus cuniculus*) con
adición de biopreservante, utilizando diferentes tipos de empaque.**

Elaborado por:

Felipe de Jesús Ramírez Chavarría

Carné: B35607

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2019

Tribunal Examinador

Proyecto de graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos.

Elaborado por:

Felipe de Jesús Ramírez Chavarría

Aprobado por:



Carolina Rojas Garbanzo, PhD.

Presidenta del Tribunal



Adriana Araya Morice, M. Sc.

Directora del Proyecto



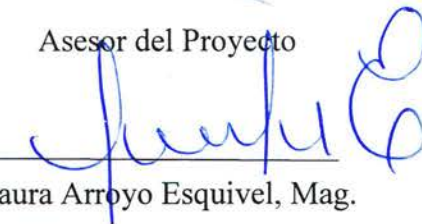
Yorleny Araya Quesada, MGA.

Asesora del Proyecto



Alejandro Chacón Villalobos, M. Sc.

Asesor del Proyecto



Laura Arroyo Esquivel, Mag.

Profesora Designada

Dedicatoria

A mi familia, amigos, profesores y funcionarios de la Escuela de Tecnología de Alimentos y el Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Índice General

Tribunal Examinador.....	i
Dedicatoria.....	ii
Índice General.....	iii
Índice de Cuadros.....	v
Índice de Figuras.....	vi
Resumen.....	vii
1. Justificación.....	1
2. Objetivos.....	4
2.1. Objetivo General.....	4
2.2. Objetivos Específicos.....	4
3. Marco Teórico.....	5
3.1. Generalidades de la carne de conejo.....	5
3.2. Razas cunícolas y generalidades de producción de la carne de conejo.....	7
3.3. Consumo de la carne de conejo.....	8
3.4. Carne molida de conejo.....	9
3.5. Aspectos de almacenamiento y empaque de la carne de conejo.....	10
3.6. Capacidad de retención de agua (CRA).....	11
3.7. Pérdida de peso por exudado.....	12
3.8. pH.....	13
3.9. Color.....	13
3.10. Valor de ácido tiobarbitúrico (TBA).....	16
3.11. Nitrógeno volátil total (NVT).....	17
3.12. Aspectos generales sobre el deterioro microbiológico de la carne.....	18
3.13. Análisis sensorial.....	19
4. Materiales y Métodos.....	22
4.1. Localización del estudio.....	22
4.2. Materiales.....	22
4.2.1. Materia prima.....	22
4.3. Preparación de muestras y métodos de análisis.....	22
4.3.1. Tratamiento de materia prima.....	22
4.4. Evaluación fisicoquímica de la carne molida de conejo.....	24
4.4.1. Diseño experimental.....	24
4.4.2. Métodos de análisis.....	24
4.4.3. Análisis de datos.....	26
4.5. Análisis sensorial.....	27

4.5.1. Análisis de datos	27
5. Resultados y Discusión	29
5.1. Evaluación fisicoquímica de la carne molida de conejo en dos tipos de empaque, durante su almacenamiento	29
5.2. Efecto del uso de un biopreservante sobre la percepción de cambios sensoriales de carne molida de conejo	43
6. Conclusiones	46
7. Recomendaciones	48
8. Bibliografía	49
9. Anexos	56
9.1. Análisis Estadísticos	56

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Comparación del contenido de agua, grasa y proteína en los componentes principales de carne de res, cerdo, pollo y conejo.	5
Cuadro 2. Composición química nutricional de la carne de conejo por cada 100 g de porción comestible.	6
Cuadro 2. Continuación.	7
Cuadro 3. Escala aproximada para la interpretación de los valores de TBA (mg/kg) en carne y subproductos.	17
Cuadro 4. Parámetros L*, a* y b* promedio de las muestras de carne de conejo molida en dos tipos de empaque (vacío y bandeja) según el tiempo de almacenamiento en refrigeración (3-4 °C)	39
Cuadro 5. Número de aciertos y d' obtenidos en las pruebas tétradas para carne molida de conejo con y sin biopreservante evaluada por 71 panelistas en cada caso, con los respectivos valores de probabilidad fija y probabilidad exacta.	43

Índice de Figuras

Figura 1. Relación entre pH y capacidad de retención de agua (CRA).....	12
Figura 2. Escala de color en arreglo de vectores en tres ejes, donde L* (luminosidad) va de claro a oscuro, a* va de verde a rojo y b* va de azul a amarillo.	14
Figura 3. Reacción de TBA con malonaldehído para la formación del pigmento rosa.....	16
Figura 4. Diagrama de flujo para la obtención de carne molida de conejo empacada y refrigerada.....	24
Figura 5. Número de TBA promedio de las muestras de carne de conejo molida en dos tipos de empaque (vacío y bandeja) según el tiempo de almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).	30
Figura 6. Nitrógeno volátil total promedio de las muestras de carne de conejo molida en dos tipos de empaque (vacío y bandeja) según el tiempo de almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).	33
Figura 7. pH promedio de las muestras de carne de conejo molida en dos tipos de empaque (vacío y bandeja) según el tiempo de almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).....	35
Figura 8. Porcentaje de pérdida de peso por exudado promedio de las muestras de carne de conejo molida en dos tipos de empaque (vacío y bandeja) según el tiempo de almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).....	37
Figura 9. Análisis estadístico del comportamiento del número de TBA en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).	42
Figura 10. Análisis estadístico del comportamiento del número de TBA en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).....	56
Figura 11. Análisis estadístico del comportamiento del NVT en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).....	57
Figura 12. Análisis estadístico del comportamiento del pH en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).....	58
Figura 13. Análisis estadístico del comportamiento de la pérdida de peso por exudado en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).	59
Figura 14. Análisis estadístico del comportamiento del parámetro L*, dentro de la evaluación de color, en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).	60
Figura 15. Análisis estadístico del comportamiento del parámetro a*, dentro de la evaluación de color, en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).	61
Figura 16. Análisis estadístico del comportamiento del parámetro b*, dentro de la evaluación de color, en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).	62
Figura 17. Análisis estadístico del comportamiento del parámetro ΔE , dentro de la evaluación de color, en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).	63

Resumen

Ramírez Chavarría, Felipe de Jesús

Estudio de almacenamiento de carne molida de conejo (*Oryctolagus cuniculus*) con adición de biopreservante, utilizando diferentes tipos de empaque.

Tesis de Licenciatura de Ingeniería de Alimentos. – San José, CR.:

F. Ramírez C., 2019.

71 h.: 17 il. - 77 refs.

Se determinó el efecto sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de la aplicación del biopreservante BLC-48®, de la casa proveedora Chr Hansen, correspondiente a un cultivo de *Lactobacillus curvatus*, sobre el almacenamiento de carne molida de conejo empacada en bandeja con film plástico o al vacío almacenada en refrigeración (3-4 °C).

Las muestras empacadas en bandeja con film plástico se almacenaron por 14 días mientras que las muestras empacadas al vacío se almacenaron durante 17 días, en ambos casos por triplicado. A través del tiempo de almacenamiento se midieron las variables fisicoquímicas de pH, número de ácido tiobarbitúrico (TBA), nitrógeno volátil total (NVT), pérdida de peso por exudado y color instrumental a través de los parámetros L*, a* y b*. Además, se realizaron dos evaluaciones sensoriales, en carne molida de conejo empacada al vacío con y sin aplicación de biopreservante, mediante pruebas tétrada entre muestras de carne con 7, 10 y 12 días de almacenamiento en comparación con muestras de carne con 0 días de almacenamiento.

En ninguna de las variables fisicoquímicas analizadas se determinó efecto significativo por parte de la aplicación del biopreservante. Por otro lado, la determinación del número de TBA indicó que hay efecto significativo del tiempo, del empaque y de la interacción empaque*tiempo, en donde el valor del número de TBA tiende a aumentar a través del tiempo de almacenamiento mayormente en el empaque en bandeja. En cuanto a la determinación de NVT, se determinó que hay efecto significativo del empaque e interacción empaque*tiempo, en donde la utilización de empaque en bandeja con film plástico generó que se obtuvieran valores mayores de la variable.

En cuanto a las mediciones de pH, se determinó que hay efecto significativo del empaque e interacción empaque*tiempo, en donde la utilización de empaque en bandeja genera un aumento del pH mientras que en el empaque al vacío se presentó disminución del pH. En lo que respecta a pérdida de peso por exudado, se determinó que hay efecto significativo del tiempo, con lo que el parámetro tiende a aumentar a través del tiempo de almacenamiento.

Con L* y a* se determinó interacción empaque*tiempo, en donde se obtuvieron valores casi constantes del parámetro independientemente del empaque. Con b* se determinó efecto significativo del empaque e interacción empaque*tiempo, en donde se apreció que el empaque en bandeja con film plástico presentó valores superiores en comparación con el empaque al vacío.

En cuanto a la evaluación sensorial, se determinó que en la muestra de carne molida de conejo sin biopresevante (control), se encuentran diferencias significativas considerables principalmente entre las muestras con 12 días y la muestra patrón con 0 días de almacenamiento, con la obtención de un d' de 1,05. Mientras que en el caso de la carne molida de conejo con biopreservante aplicado, se encontraron diferencias significativas entre las muestras con 7, 10 y 12 días de almacenamiento respecto a la muestra patrón con d' respectivos de 1,24, 1,38 y 1,84.

Los resultados obtenidos con las pruebas fisicoquímicas y sensoriales realizadas sustentados con información microbiológica de las muestras permiten determinar que para el caso de carne molida de conejo empacada al vacío y almacenada en refrigeración, es posible almacenar el producto a través de un máximo de 12 días y que se encuentre en condiciones apropiadas para el consumo.

CARNE DE CONEJO, CARNE MOLIDA, BIOPRESERVANTE, OXIDACIÓN LIPÍDICA, OXIDACIÓN PROTEICA, PÉRDIDA DE PESO POR EXUDADO, COLOR INSTRUMENTAL, ANÁLISIS SENSORIAL

M. Sc. Adriana Araya Morice

Escuela de Tecnología de Alimentos.

1. Justificación

La carne es un alimento importante para la alimentación humana, ya que corresponde a una fuente de proteínas de alta calidad, vitaminas y minerales esenciales en donde se destaca el hierro (Blandino, 2005). La composición de la carne varía según la especie, edad, sexo y hasta el tipo de alimentación y estado productivo del animal (Kirk *et al.*, 2006).

La calidad de la carne está tradicionalmente determinada por aspectos sensoriales (apariencia, textura, aroma y sabor); sin embargo, actualmente otros factores como el valor nutritivo y la inocuidad alimentaria han cobrado gran importancia. La estrecha relación entre la dieta y la salud ha conducido a cambios en los hábitos del consumidor, exigiendo productos que respondan a sus preferencias alimentarias y nutricionales. En este contexto, la carne de conejo es muy valorada por sus propiedades nutricionales y dietéticas, ya que es una carne magra con un bajo contenido de grasa y con menor contenido en ácidos grasos saturados y colesterol que otras carnes. Además es una carne blanca, fácil de cocinar, de buen sabor y adaptable a las diversas dietas, adecuada para el consumo en niños, adultos mayores y en muchas ocasiones hasta para pacientes enfermos (Hernández, 2008).

La producción de carne de conejo presenta ciertas ventajas en comparación a la producción de carne de otros animales para el consumo, como lo es su bajo costo de inversión en instalaciones, bajo requerimiento de área, fácil manejo, corto ciclo reproductivo y productividad alta en comparación con la producción ganadera y porcina. A pesar de esto, el producto se clasifica como de primer orden en calidad por lo que su precio resulta superior al de otras carnes (López, 2014). En este sentido, resulta conveniente brindarle un valor agregado al producto para aprovecharlo en mayor medida.

Haciendo uso de carne molida de conejo se brinda al consumidor otra manera de presentación del producto, que además trae consigo alternativas culinarias como por ejemplo utilizarlo para la elaboración de tortas de carne. Sin embargo, al presentarse mayor manipulación en la elaboración de carne molida, ésta corresponde a un producto más vulnerable al deterioro microbiológico (Mahecha, 2004), tomando en cuenta que la carne como alimento, en general, es un excelente sustrato para el crecimiento microbiano. Es por esto que la industria ha buscado alternativas que permitan aumentar la vida útil de productos cárnicos frescos, de manera natural

y sin tener que adicionar aditivos o ingredientes no deseados en la etiqueta. A partir de esto, la posibilidad de utilizar biopreservantes compuestos por bacterias ácido lácticas (BAL) en carne molida fresca de conejo, podría resultar en una opción apropiada para el aseguramiento de la calidad de la misma y la posible prolongación de su vida en anaquel sin tener que reportar la adición.

Para el presente trabajo final de graduación, se utilizó un cultivo de *Lactobacillus curvatus* como biopreservante para evaluar su efecto en la conservación de la carne molida de conejo. A pesar de que este producto es recomendado para productos cocidos listos para consumir, el proveedor también sugiere su aplicación en productos cárnicos crudos debido a su acción bactericida hacia microorganismos patógenos y de deterioro por medio de la producción de una bacteriocina llamada curvacina A, la cual ha mostrado además ser efectiva contra otras bacterias ácido lácticas importantes en el deterioro de productos cárnicos (Gálvez *et al.*, 2008). De esta forma, resulta interesante estudiar el potencial antimicrobiano de *L. curvatus* en su aplicación en carnes frescas, específicamente carne molida de conejo.

En Costa Rica, el mercado de la carne de conejo es variable; ésta se consume principalmente en hoteles y restaurantes especializados. En general, los costarricenses no tienen el hábito de consumir este tipo de carne por considerar al conejo una mascota, idea que ha dificultado su mercadeo dentro de la población nacional. Puede decirse que Costa Rica no es un productor importante de carne de conejo, por ende, son pocas las granjas que manejan rendimientos y tecnología avanzada, lo cual afecta, directamente, la rentabilidad de los proyectos, más aún ante un mercado globalizado y muy competitivo (Cordero, 2012).

Entre las pocas empresas cúnculas ubicadas a nivel nacional se encuentra Rabbits de Costa Rica localizada en Pacayas de Cartago. Su producción semanal es de 150 canales y corresponde a la única proveedora de carne de conejo de la cadena de supermercados Auto Mercado en donde se puede adquirir el producto (Gonzales, 2016). Entre las principales necesidades de una empresa como ésta se encuentra la integración de valor agregado a sus productos, como correspondería a un producto en donde su vida útil se vea beneficiada y además en una presentación alternativa como la carne molida.

Como parte del valor agregado también se evaluó el tipo de empaque utilizado. Comúnmente en Costa Rica se comercializa la carne molida de distintas especies al por menor,

en bandejas de poliestireno cubiertas en film plástico. Por esta razón, se realizaron análisis en muestras empacadas de esta manera y se compararon con muestras de carne molida empacadas al vacío, durante su almacenamiento en refrigeración.

Entre los métodos fisicoquímicos para evaluar la calidad de productos cárnicos se encuentran las pruebas de pH, color, determinación de exudado, determinación de nitrógeno volátil total (NVT) y determinación del índice de ácido tiobarbitúrico (TBA). Estos análisis logran determinar el estado de la calidad de la carne, tanto por signos de descomposición que sean fácilmente perceptibles y los que no lo son. Además de que con la selección de los métodos anteriores para efectuar un análisis de calidad de carne se logra evaluar tanto la descomposición lipídica como la descomposición proteica de la misma (Acevedo, 2004).

Además de la importancia de los resultados fisicoquímicos que evalúan el grado de descomposición de la muestra cárnica, resulta importante comparar también los datos con pruebas sensoriales para determinar la percepción de los consumidores ante el deterioro gradual de la carne y poder estimar una vida útil adecuada para el producto. En este caso en particular en donde se utilizarán biopreservantes también se pretende determinar si los consumidores detectan las diferencias entre las muestras cárnicas sin la presencia del biopreservante y con la presencia del mismo.

Basado en la información anterior, el fin de este estudio fue determinar el efecto del uso de un biopreservante en las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de la carne molida de conejo con distintos empaques, durante su almacenamiento.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Determinar el efecto del uso de un biopreservante en el comportamiento de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de la carne molida de conejo con dos tipos de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración.

2.2. Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto del uso de un biopreservante en carne molida de conejo, según tipo de empaque, sobre sus propiedades fisicoquímicas durante su almacenamiento.
- Determinar el efecto del uso de un biopreservante sobre la percepción de cambios sensoriales de carne molida de conejo medidos con consumidores, durante su almacenamiento.

3. Marco Teórico

3.1. Generalidades de la carne de conejo

La carne en general es un ingrediente de gran importancia en la alimentación humana. Su gran riqueza nutritiva se debe fundamentalmente a su elevado contenido en proteínas de alto valor biológico; sin embargo, es uno de los alimentos más perecederos debido a su alto contenido en agua, composición y pH; lo que favorece la alteración y contaminación microbiana, pudiendo constituir un riesgo para la salud (León & Ramírez, 2004).

El conejo es uno de los mamíferos representativos de la caza menor, aunque también se cría en granjas. La carne de conejo es de color rosado, es apetitosa y fácil de digerir, ideal para las dietas bajas en calorías y grasas. Presenta aroma característico a carnes frescas, baja acidez y posee una actividad del agua (a_w) comprendida en el rango 0,98-0,999 (Cossu & Capra, 2014). Las cualidades que posee la carne de conejo no corresponden a las mismas cualidades de todos los tipos de carne, de hecho la carne de conejo destaca en lo que respecta a su contenido graso y proteico en comparación a carne de res y de cerdo al presentar mayor contenido de proteínas y menor contenido de grasa que éstas, siendo la carne de conejo más apropiada nutricionalmente que las anteriores en este sentido. En el Cuadro 1 se puede apreciar una comparación en el contenido de agua, grasa y proteína de distintas carnes.

Cuadro 1. Comparación del contenido de agua, grasa y proteína en los componentes principales de carne de res, cerdo, pollo y conejo.

Especie	Contenido de agua (% m/m)	Contenido de grasa (% m/m)	Contenido de proteínas (% m/m)
Res	66,7	13,5	18,9
Cerdo	59,5	22,5	16,6
Pollo	77,0	3,1	20,4
Conejo	74,6	4,0	21,6

Fuente: Kirk *et al.*, 2006.

En comparación con otras carnes remarcadas por su bajo contenido en colesterol como el pavo o el pollo, la carne de conejo tiene la particularidad de que es más baja en calorías, tiene un alto porcentaje en proteínas de elevado valor biológico, bajo contenido en grasa, especialmente en

colesterol, una adecuada proporción de grasas insaturadas (mono y poliinsaturadas) y una gran riqueza en algunos minerales importantes (como hierro y calcio) y ciertas vitaminas (como niacina y vitamina B12). Además, posee unas buenas proporciones de magnesio, potasio, vitamina B6, vitamina E y ácido fólico; es asimismo baja en sodio, lo que hace que pueda entrar en la dieta de pacientes con hepatopatía crónica no descompensada, embarazadas, niños pequeños, enfermos con hipertensión arterial o insuficiencia renal crónica leve-moderada (Bixquert & Gil, 2018). La composición de la carne de conejo que demuestra su importante valor nutricional se presenta en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Composición química nutricional de la carne de conejo por cada 100 g de porción comestible.

Componente	Cantidad por cada 100 g de carne de conejo
Energía (kcal)	133,0
Proteínas (g)	23,0
Lípidos totales (g)	4,6
AG saturados (g)	1,55
AG insaturados (g)	2,01
Omega 3 (g)	0,233
Omega 6 (g)	0,662
Colesterol (mg/1000 kcal)	71,0
Hidratos de carbono (g)	0
Fibra (g)	0
Agua (g)	72,4
Calcio (mg)	22,0
Hierro (mg)	1,0
Magnesio (mg)	25,0
Zinc (mg)	1,4
Sodio (mg)	67,0
Potasio (mg)	360,0
Fósforo (mg)	220,0

Cuadro 2. Continuación.

Tiamina (mg)	0,1
Riboflavina (mg)	0,19
Equivalentes de niacina (mg)	12,5
Vitamina B6 (mg)	0,5
Folatos (μ g)	5,0
Vitamina B12 (μ g)	10,0
Vitamina E (mg)	0,13
Tiamina (mg)	0,1

Fuente: Moreiras *et al.*, 2013.

3.2. Razas cunícolas y generalidades de producción de la carne de conejo

Las razas cunícolas se clasifican según su peso adulto, las razas pesadas corresponden a las que poseen una masa de más de 5 kg, como por ejemplo, el Gigante de Flandes o el Belier Francés; las razas medianas que van de 3,5 kg a 4,5 kg como la Neozelandesa Blanca y la Californiana; las razas ligeras que van de 2,5 kg a 3 kg, en las que se encuentran el conejo Ruso o el Pequeño Chinchilla; y las razas enanas en donde la especie posee un valor de masa de alrededor de 1 kg. Para la producción de carne bajo sistemas intensivos se emplean principalmente líneas obtenidas a partir de razas medianas, de estas razas las más difundidas son la Californiana y la Neozelandesa Blanca. La raza Californiana presenta capa blanca con los extremos (orejas, patas, cola y hocico) negros y posee los ojos rojos. La raza Neozelandesa Blanca, que es la más explotada del mundo y la utilizada en Costa Rica, tiene un peso adulto de aproximadamente 4 kg, su pelaje típico es blanco y tiene los ojos rojos (González & Caravaca, 2007).

Entre las características que hacen ventajosa la producción de la carne de esta especie, es la baja inversión en instalaciones y el menor requerimiento de área comparado con otras especies. El conejo requiere de poco espacio, en donde normalmente se utilizan jaulas elaboradas con materiales de bajo costo para contener una gran cantidad de especies, esto ha ocasionado incluso, que en ciertas partes del mundo, familias pueden tener su criadero de conejos en sus mismos hogares. También, en este tipo de producción se debe destacar la facilidad de manejo de la especie que, con una sujeción adecuada, el conejo puede ser fácilmente trasladado para otro tipo de actividades como por ejemplo el pesaje del animal, además que el conejo se destaca como un

animal tranquilo en estos ambientes. Otro aspecto fundamental que facilita la producción del animal es el corto ciclo reproductivo que posee. La gestación de la especie dura aproximadamente 31 días con un periodo de lactancia de 30 días, lo que quiere decir que los conejos hembra pueden tener fácilmente hasta 6 partos al año y con un manejo intensivo se puede llegar hasta 8 partos por año; además con excelente productividad en donde se podrían llegar a obtener entre 35 y 55 crías aptas para ser procesadas por año. Asimismo, la alimentación del conejo es sencilla, este consume principalmente alimentos fibrosos. En una crianza familiar puede consumir forrajes y granos, mientras que comercialmente hablando se utilizan alimentos balanceados tipo “pellets” (López, 2014).

En Costa Rica, a pesar de que sus habitantes no son consumidores habituales de carne de conejo, existen tres productores de este tipo de carne a nivel nacional, siendo la empresa Rabbits de Costa Rica la de mayor tamaño por su productividad. Esta empresa es la única distribuidora del producto para la cadena Auto Mercado, con una producción semanal de aproximadamente 150 canales por día. Su producción ha crecido desde sus inicios, dándose a conocer cada vez más en el mercado, generando nuevas ideas y formas de presentación del producto (Gonzales, 2016).

3.3. Consumo de la carne de conejo

En los últimos años se registró un aumento del procesamiento de la canal del conejo para facilitar tanto su preparación y cocción como la elaboración de productos derivados. Tradicionalmente la carne de conejo es presentada como conejo entero o en porciones, principalmente muslo, medallones e hígado en Costa Rica.

La carne de conejo es consumida en diferentes países del mundo y se estima que su consumo medio a nivel mundial es de 300 g de carne de conejo por persona por año. El mayor consumo se presenta en la Unión Europea con 1,7 kg por habitante/año, siendo Italia el primer país consumidor con 5,3 kg. Nápoles posee el consumo por habitante más alto del mundo con 15 kg por año. Mientras que en China, siendo el primer productor mundial, solo se consumen menos de 10 g por habitante por año puesto que la actividad está orientada a la producción de pieles (Bixquert & Gil, 2005). Asimismo, el consumo de carne de conejo a nivel latinoamericano y nacional no es significativo debido a la percepción del animal como mascota, el desconocimiento de las formas de preparación y de las propiedades de la carne y el precio poco competitivo con relación a las carnes tradicionales (Cury *et al.*, 2011). En Costa Rica, el

consumo de carne de conejo se ha evidenciado por el incremento de la producción de empresas productoras de carne de conejo. En el 2010 se colocaban 100 unidades de conejo en el mercado nacional al mes mientras que para el año 2018 se colocaron 150 unidades de conejo por semana (Gonzales, 2016).

3.4. Carne molida de conejo

La carne molida en general se encuentra dentro de la clasificación de productos cárnicos en la que el músculo ha sufrido reducción de tamaño mediante la operación de molienda. De modo que se genera un producto cárnico que trae consigo nuevas alternativas culinarias, lo cual podría considerarse como un valor agregado para la carne, especialmente en el caso de la carne de conejo cuyas formas de presentación para la venta en el mercado son muy limitadas en comparación a la carne de otras especies, sobre todo en Costa Rica en donde ni siquiera se distribuye carne molida de conejo.

Para realizar la molienda de la carne de conejo se debe utilizar un equipo llamado molino de carne, en el cual se introduce la carne de conejo previamente cortada manualmente y esta pasa a través de un tornillo sin fin que la dirige hacia unas cuchillas giratorias para efectuar las fuerzas de corte características en las operaciones de molienda. Posteriormente y por la acción del tornillo sin fin la carne se ve forzada a pasar, mediante fuerzas de compresión principalmente, a través de un disco con orificios para obtener la forma y tamaño característico de la carne molida (Goswani & Singh, 2003).

Entre las ventajas que se pueden destacar de la producción de carne molida, en este caso referida al conejo, se encuentra el hecho de que se pueden llegar a utilizar partes del animal que son difíciles de vender en cortes frescos, además de las ya mencionadas alternativas culinarias que puede traer consigo la elaboración de este producto. La carne molida de conejo también podría introducir nuevos productos como lo son tortas para hamburguesas o embutidos que se han elaborado para el desarrollo de estudios pero no para la comercialización a nivel nacional. En el caso particular de la molienda de carne, se podrían presentar otras ventajas como la obtención de un producto más fácilmente digerible y en producciones a gran escala además se vería facilitado el transporte del alimento (Baquero & Serrano, 2017).

3.5. Aspectos de almacenamiento y empaque de la carne de conejo

La industria alimentaria ha implementado nuevas tecnologías de conservación para el aumento de la vida útil, garantizando calidad e inocuidad y minimizando los cambios en los productos alimenticios. Las propiedades sensoriales de la carne son fundamentales para la elección del consumidor al momento de la compra, principalmente su aspecto (color y consistencia de la carne cruda), la textura (terneza y jugosidad) y el denominado “flavor” que representa el olor y el sabor. Se ha determinado que la carne de conejo cambia la apariencia con el tiempo de almacenamiento, de modo que se torne más oscura y seca o húmeda, de acuerdo con el sistema de empaque. La elevada actividad de agua y el alto contenido en nutrientes de la carne de conejo y los productos cárnicos en general los convierte en alimentos perecederos. La contaminación microbiana superficial, que puede extenderse al resto del producto durante su procesamiento, la oxidación lipídica que origina sabores y olores desagradables, así como la deshidratación y las alteraciones de los pigmentos responsables del color, serían los fenómenos más importantes implicados en su deterioro (Berruga *et al.*, 2005).

En general, el consumidor asocia fresca y calidad con un buen color de la carne, por lo que en el proceso de fabricación se deben considerar las condiciones de almacenamiento y los diversos métodos de empaque disponibles, con el fin de evitar la alteración de la apariencia de la carne fresca. Dentro de las tecnologías de envasado que pueden ser utilizadas en productos cárnicos como la carne de conejo y que tienen el objetivo mantener la calidad sensorial de productos y prolongar su vida comercial, se encuentran el uso de películas de distinta permeabilidad al oxígeno, el vacío y las atmósferas modificadas. El envasado al vacío implica la eliminación del aire contenido en el envase, mientras que en el caso de las atmósferas modificadas, al paso anterior le sigue una inyección de un gas o mezcla de gases seleccionado de acuerdo a las propiedades del alimento (García *et al.*, 2006).

El empacado al vacío reduce la oxidación de lípidos en la carne de conejo y extiende su vida útil a temperaturas de enfriamiento en comparación al uso de empacado mediante recubrimiento con películas de plástico. Sin embargo, debido a la reacción de la mioglobina en ausencia de oxígeno, la carne sufre un oscurecimiento que puede afectar la apariencia en el anaquel, y por ende la intención de compra del consumidor (Fernández & O’Neill, 1993).

3.6. Capacidad de retención de agua (CRA)

La capacidad de retención de agua (CRA) es una propiedad de la carne que está relacionada con la retención de agua libre ante la aplicación de fuerzas externas; gran cantidad de las propiedades físicas y sensoriales de la carne dependen de la CRA. La CRA es particularmente importante en productos picados o molidos, ya que en ellos se pierde la integridad de la fibra muscular y, por lo tanto, no existe una retención física del agua libre. En los productos procesados es importante tener una proporción adecuada de proteína/agua, tanto para fines de aceptación sensorial, como para obtener un rendimiento suficiente en el peso del producto terminado y para cumplir con los requisitos de la legislación nacional vigente. Entre los factores que afectan la CRA son la cantidad de grasa, el pH y el tiempo que ha transcurrido desde el deshuesado (Medina, 2009).

El contenido de agua y su distribución dentro de la carne tienen una gran influencia en su calidad y valor económico. Varios factores afectan el número de grupos reactivos en las proteínas musculares y su capacidad para retener agua, estos factores dependen de la producción de ácido láctico, pérdida de ATP, desarrollo del *rigor mortis* y cambios estructurales de las células asociadas con la actividad de enzimas proteolíticas (Gonzales & Ibsen, 2010).

El grado de capacidad de retención de agua asociado con el índice de cambios *post mortem* se puede apreciar debido a sus efectos sobre la firmeza, estructura y textura. Los músculos con alta capacidad de inmovilizar agua son más firmes y poseen una estructura rígida, mientras que los tejidos con una baja capacidad de inmovilizar agua son más suaves y tienen una estructura flácida. La formación de ácido láctico, que produce disminución de pH, durante el periodo *post mortem* ocasiona la reducción general de los grupos reactivos en las proteínas que pueden formar enlaces con agua, que ocurre porque el pH alcanza el punto isoeléctrico de las proteínas miofibrilares. Como consecuencia, se limita la cantidad de estos grupos para atraer agua. La capacidad de retención de agua del tejido muscular tiene un efecto directo en la merma observada en la carne durante el almacenamiento (Gonzales & Ibsen, 2010). El efecto del pH en la capacidad de retención de agua de un producto cárnico se puede apreciar en la Figura 1.

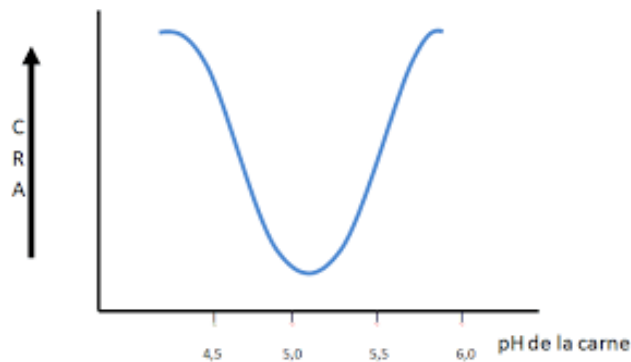


Figura 1. Relación entre pH y capacidad de retención de agua (CRA)

Fuente: Sánchez, 1997.

3.7. Pérdida de peso por exudado

La pérdida de peso por exudado también conocida como “drip loss” es definida como la cantidad de líquido exudado en la superficie de la carne, sin la aplicación de una fuerza mecánica externa, utilizando únicamente la gravedad. El exudado es básicamente agua y proteínas que se liberan del músculo posterior al *rigor mortis* (Braña *et al.*, 2011).

Cuando los tejidos tienen una baja capacidad de retención de agua, la pérdida de humedad y por ende la pérdida de peso durante el almacenamiento es mayor. Una vez que la canal es fraccionada en los cortes principales, la superficie de exposición al aire se aumenta y, como consecuencia, también se incrementa la pérdida de humedad por evaporación. Dependiendo de las condiciones ambientales, la pérdida de humedad puede ser más o menos severa pero siempre se afecta la calidad de la carne por la deshidratación superficial (Gonzales & Ibsen, 2010).

Las mediciones de pérdida de peso por exudado generalmente se realizan para definir características de la carne en términos de costos, ya que al venderse por peso no es conveniente que la carne pierda agua durante su almacenamiento ya que se tendría un valor de masa inferior en la misma y se vendería a menos precio. Sin embargo, también se asocia la pérdida de peso por exudado a un atributo de inocuidad de la carne, pues durante el almacenamiento se genera descomposición proteica en el alimento lo cual ocasiona una salida de agua mayor en el mismo en comparación a la carne fresca, de modo que es un aspecto importante a evaluar pues a mayor

cantidad de agua que haya perdido la carne, más expuesta ha estado la misma a descomposición (Gómez & Gómez, 2013).

3.8. pH

El pH es uno de los principales parámetros a considerar para verificar la calidad de la carne, porque afecta varias de sus cualidades (color, capacidad de retención de agua, entre otros). El pH es definido como el logaritmo negativo de la concentración de protones. Tiene una escala entre 0 y 14. Un valor de pH por debajo de 7 es considerado como ácido, y por encima de un valor de 7 se considera alcalino o también denominado básico. Su medición en alimentos se realiza con un instrumento llamado pHmetro (Belitz & Grosch, 1992).

El pH del músculo de animales sanos y vivos es de alrededor de 7,04, este inicia su descenso después de la matanza del animal debido a la transformación de glucógeno muscular en ácido láctico mediante la glucólisis. El momento de mínimo pH, que corresponde a un valor aproximado de 5 en el caso de la carne de conejo, coincide con el *rigor mortis* en el cual es el momento de retención mínimo de humedad en el tejido. Se dice que este es el momento de pH mínimo porque es cuando se han acabado las reservas de glucógeno y se detiene la producción de ácido láctico. Una vez que se ha alcanzado el máximo de rigidez y el valor de pH mencionado anteriormente, pueden operar las enzimas catepsinas desdoblado proteínas mediante el proceso de maduración de la carne en donde el pH se reduce y la capacidad de retención de agua aumenta debido al aumento de moléculas proteicas (Barreiro & Sandoval, 2006).

Las variaciones del pH durante el almacenamiento de productos cárnicos se atribuyen principalmente al efecto de la descomposición del alimento en el mismo. La caída en el pH durante el almacenamiento se ha relacionado con el crecimiento gradual de bacterias lácticas y la generación de ácido láctico por parte de las mismas. Por otro lado, un aumento en el pH cuando el producto cárnico está almacenado podría estar relacionado más bien al efecto de otras bacterias de deterioro que generan descomposición de proteínas (Viuda *et al.*, 2010).

3.9. Color

Para que se pueda generar el color, deben existir primero una fuente de luz, una superficie que se ilumine y un detector que perciba e interprete lo que la muestra refleja. En la apreciación visual, el receptor es la retina que envía a analizar las señales al cerebro donde se produce una

versión subjetiva sobre la percepción del color. Para evitar esa subjetividad, y poder producir información que sea entendible y reproducible de forma universal, se utilizan tres características físicas que definen al color. El tono, también llamado “Hue” se refiere al nombre del color, éste resulta de la suma de estímulos generados en la retina, cuando recibe impulsos con diferentes longitudes de onda. Estos colores pueden tener diferente intensidad, pudiendo ser colores muy intensos o muy débiles en términos de saturación de color, esto se denomina “Croma”. Finalmente, la luminosidad nos indica que tan claro u oscuro es un color (Alberti *et al.*, 2005).

El espacio polar de color Hunter L, a, b se basa en un esquema de vectores que se representan de forma tridimensional, y que están basados en la teoría de los colores opuestos. La integran los parámetros L, a y b. L se refiere a la luminosidad y se ubica verticalmente, tomando valores de 100 (blanco) y 0 (negro); mientras que a y b, ubicados horizontalmente, no tienen límites, pero sí valores positivos o negativos. La escala de a se mueve de los valores positivos (rojo +) a los negativos (verde -); mientras que la escala de b va del amarillo (+) al azul (-) (Braña *et al.*, 2011), tal como se muestra en la Figura 2. Todos los colores que se pueden percibir visualmente se pueden mostrar en este espacio rectangular de color.

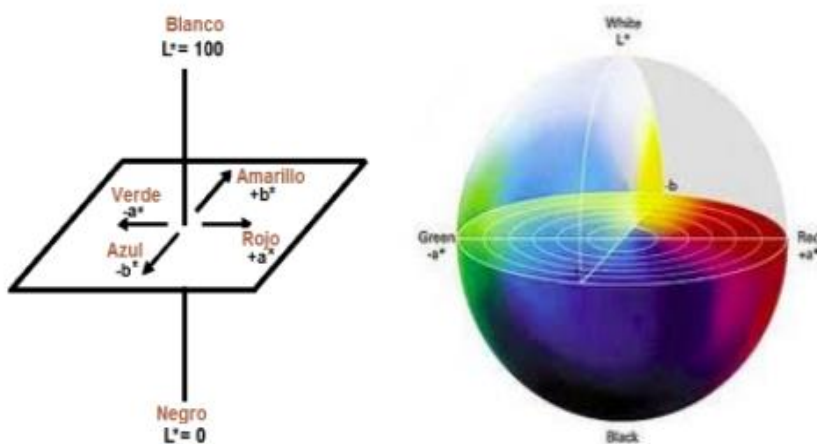


Figura 2. Escala de color en arreglo de vectores en tres ejes, donde L^* (luminosidad) va de claro a oscuro, a^* va de verde a rojo y b^* va de azul a amarillo.

Fuente: Braña *et al.*, 2011.

En 1976, la “Comission Internationale de L’Eclairage” (CIE) propuso una modificación a la escala original (Hunter L, a, b), al calcular de forma diferente los valores y pasó a nombrarlos

L^* , a^* , b^* lo que ahora se conoce como el espacio de color CIEL*a*b*. Este espacio de color, es una transformación matemática de las coordenadas X, Y, Z. Las mediciones se realizan colocando la muestra en un colorímetro Hunter lab en el cual se puede seleccionar el tipo de escala a utilizar (Braña *et al.*, 2011).

En ocasiones, algunos autores prefieren expresar los valores, en términos de Luminosidad (L^*), “Croma” o saturación (c^*) y “Hue” o tono (H^*), ya que permite una descripción numérica del color de manera semejante al que los seres humanos comunican verbalmente el color en términos de luminosidad, saturación y tonalidad. Estos parámetros se calculan a partir de a^* y b^* de acuerdo a las siguientes ecuaciones (Braña *et al.*, 2011):

$$H^* = \arctan (b^*/a^*)$$

$$c^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

Aunque similares en organización, un color tendrá valores numéricos diferentes en estos dos espacios (Hunter Lab y CIEL*a*b*), por lo que al momento de realizar la medición deberá indicarse cuál es la escala y el instrumento que se utiliza, que corresponde a la escala CIEL*a*b* en este caso.

También es posible calcular la diferencia de color, denotada como ΔE^* , entre una muestra patrón y una muestra a analizar, esta diferencia de color establece la variación general de color englobando los parámetros L^* , a^* y b^* entre la muestra deseada y la muestra patrón. La diferencia de color puede calcularse de la siguiente manera (Mokrycki & Tatil, 2012).

$$\Delta E^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$$

En donde las variables ΔL , Δa y Δb se calculan como una diferencia entre el valor del respectivo parámetro de la muestra patrón y de la muestra a analizar.

Al realizar la determinación de color en el músculo, el parámetro de L^* se correlaciona con el estado físico de la carne, debido al pH final del músculo, a la estructura de las fibras musculares y a la cinética implicada para establecer el *rigor mortis*; mientras que el tono es determinado por el estado químico del pigmento de mayor concentración en la carne, la mioglobina (Mb, de color rojo púrpura; oximioglobina, MbO₂, de color rojo vivo; metamioglobina, MetMb, de color pardo). El tono en la carne fresca está relacionada con los factores *post mortem*, mientras que el croma, se relaciona más con la concentración de mioglobina, que influye directamente en la saturación del

color del músculo y se relaciona principalmente con los factores *ante mortem*. Las mediciones de color en la carne cruda son afectadas por la nutrición del animal, la velocidad de enfriamiento de la canal, el tipo de músculo, la orientación de las fibras, el pH del músculo, el tiempo y la temperatura de almacenamiento *post mortem*, el tiempo de exposición del músculo al oxígeno, el grado y la distribución del marmoleo, la humedad y brillo de la superficie y la concentración de mioglobina (Fernández & O'Neill, 1993).

3.10. Valor de ácido tiobarbitúrico (TBA)

El daño oxidativo es el mayor factor no microbiano responsable del deterioro en la calidad de los productos cárnicos. Estos procesos oxidativos inducen modificaciones en los lípidos y proteínas del músculo, afectando las propiedades sensoriales y nutricionales de la carne y sus subproductos (Kiokias *et al.*, 2010). La determinación del número de TBA es uno de los métodos diseñado para determinar el grado de oxidación lipídica en alimentos, que se fundamenta en la absorbancia del color rosado formado por la reacción entre el TBA y productos de oxidación de lípidos poliinsaturados (Rustad, 2010).

Se ha determinado que la intensidad del pigmento rosa aumenta a medida que avanza la rancidez oxidativa y por tanto, se ha aplicado como un indicador fiable oxidativo a una amplia variedad de alimentos. El complejo coloreado se atribuye a la condensación de dos moles de TBA y un mol de malonaldehído (MDA), que se forma como un producto de descomposición de hidroperóxidos de lípidos en las condiciones de prueba ácidas que posee un color rosa y tiene absorbancia máxima alrededor de los 530 - 540 nm (Candogan & Kolsarici, 2003). La reacción química representativa para esta prueba de calidad de la carne se muestra en la Figura 3.

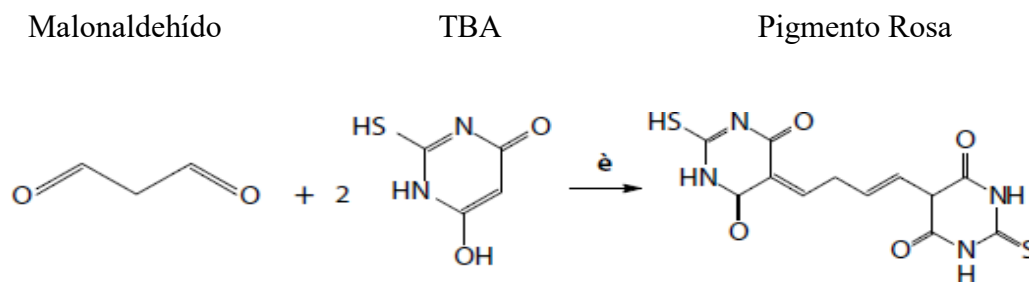


Figura 3. Reacción de TBA con malonaldehído para la formación del pigmento rosa.

Fuente: Candogan & Kolsarici, 2003.

No obstante, la reacción no es específica, y el color se forma por muchos productos de oxidación secundarios diferentes. Muchos factores influyen en el color en la prueba TBA, tales como temperatura, tiempo de calentamiento, pH e iones metálicos. Además, muchos otros componentes en los alimentos pueden reaccionar con TBA o interferir con las mediciones como por ejemplo: proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos, nitrito, sacarosa y otros azúcares, productos de reacciones de pardeamiento, antioxidantes y metales traza (Rustad, 2010).

Por la razón descrita anteriormente, se han realizado varios intentos para establecer una relación entre los valores de TBA y el desarrollo de sabores indeseables en grasas y aceites. En el Cuadro 3 se presenta una de las interpretaciones sugerida para los valores del número de TBA y su relación con la calidad de productos cárnicos.

Cuadro 3. Escala aproximada para la interpretación de los valores de TBA (mg/kg) en carne y subproductos.

Número de TBA	Interpretación
< 0,2	Calidad Buena
0,2 – 0,5	Tolerable
0,5 – 1,5	Parcialmente oxidada
1,5 – 5,0	Oxidada
> 5,0	Rancio - Incomestible

Fuente: Coetzee & Hoffman, 2001.

A pesar de que el Cuadro 3 define como incomestible hasta los valores de TBA de 5,0 y superiores, otras fuentes sugieren que no se recomendable ingerir un alimento con un número de TBA superior a 1,0; valor en donde según lo determinado ya la carne se encuentra oxidada (Candogan & Kolsarici, 2003).

3.11. Nitrógeno volátil total (NVT)

La cuantificación de las bases volátiles nitrogenadas totales o nitrógeno volátil total (NVT) se utiliza como un criterio de calidad en productos cárnicos, principalmente en productos pesqueros, y se refiere a la detección de todas las bases nitrogenadas volátiles como lo son la trimetilamina (TMA), dimetilamina, amoníaco y otros compuestos nitrogenados asociados al deterioro. Por su naturaleza, el pescado posee mayor contenido de compuestos nitrogenados que otros tipos de carne, ya que son estos los que poseen una sustancia llamada óxido de trimetilamina

(OTMA) y las bacterias que se encuentran naturalmente en la piel y vísceras de pescado generan el desdoblamiento de OTMA a TMA, lo cual es señal de deterioro microbiano y enzimático, y puede ser cuantificado por este método. Para otro tipo de especies como lo es la carne de conejo, los compuestos nitrogenados principales que son signos del deterioro corresponden al amoníaco y a aminas biógenas producto de la degradación de las proteínas y péptidos del músculo generando aminoácidos libres, que pueden convertirse en aminas por reacciones de descarboxilación (Monterrosa, 2007).

Al representar una causa de deterioro, entre menor sea este contenido se establece mayor frescura en el producto. Para el caso de la carne de conejo, se han realizado estudios de almacenamiento en donde para el día 9, la carne presentó un valor superior a 50 mg N/100 g y en ese punto se rechazó la muestra determinándose como inapropiada para el consumo, considerando que en el día 0 de almacenamiento la carne presentó un valor de 29 mg N/100 g (Badr, 2004). Por otro lado, en carne de res se han reportado valores de 15 mg N/100 g en donde la muestra ya no es apta para el consumo (Li *et al.*, 2019). Para el caso de productos cárnicos, muestra en la cual este procedimiento es el más común, se ha definido que valores entre 5-10 mg N/ 100 g corresponden a muy fresco y valores entre 30-40 mg N/ 100 g corresponden a producto deteriorado (Durazo, 2006).

3.12. Aspectos generales sobre el deterioro microbiológico de la carne

La carne posee un alto contenido de agua y gran cantidad de nutrientes disponibles en su superficie, es por esto que los productos cárnicos son conocidos como unos de los alimentos más perecederos. Además de las alteraciones físicas y químicas, otro factor importante de deterioro es el crecimiento de microorganismos indeseables. Este deterioro bacteriano conlleva al desarrollo de olores desagradables y a la aparición de sustancias viscosas en su superficie, lo que provoca que el producto no sea aceptado por los consumidores y corresponde a un peligro en caso de que este lo ingiera (Mateauda, 2013).

La microflora bacteriana habitual de la carne fresca es muy heterogénea y se encuentra principalmente conformada por *Pseudomonas*, géneros de la familia *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter* sp., *Brochotrix thermosphacta* y *Lactobacillus* sp., que dependiendo de su número y especie pueden causar diferentes alteraciones. Dentro de las bacterias patógenas más comunes

se puede encontrar *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersenia enterocolitica*, *E. coli*, *Clostridium perfringes* y *Clostridium botulinum* (Mateauda, 2013).

Los principales microorganismos implicados en el deterioro de las canales de conejo, con valores de pH superiores a las de otras carnes rojas, son *Pseudomonas* y en menor grado las levaduras y *B. thermosphacta*; la acción microbiana genera que la carne se deteriore y desarrolle olores putrefactos más rápidamente que otras carnes (Rodríguez *et al.*, 2005).

Las bacterias ácido lácticas constituyen un grupo que ha sido fuertemente asociado con el deterioro de productos cárnicos frescos y cocidos. Por ende, estos siguen siendo un buen indicador del deterioro en productos cárnicos ya que se ha demostrado la aparición de sabores y olores característicos de los productos fermentados que resultan en rechazo por parte del consumidor cuando esta característica no es esperada en el producto final (Nychas & Drosinos, 2014). Bacterias ácido lácticas tales como *Lactobacillus* sp., *Carnobacterium* sp. y *Leuconostoc* sp. están implicadas en el deterioro de la carne almacenada en atmósferas modificadas, envasadas al vacío e incluso en algunas ocasiones en condiciones aeróbicas. Las especies comúnmente encontradas son *Lactobacillus curvatus*, *Leuconostoc* spp. y *Lactobacillus sakei* (Casaburi *et al.*, 2015).

En diferentes estudios se ha encontrado que las bacterias ácido lácticas son las principales bacterias asociadas con el deterioro de productos cárnicos con tratamientos térmicos, volviéndolas una de las bacterias principales por analizar en estudios de vida útil y preservantes para la industria cárnica (Dusková *et al.*, 2016). Sin embargo, en la actualidad se mantiene la discusión de si estos microorganismos contribuyen con la generación de metabolitos ofensivos y la degradación sensorial del producto o si más bien, estos fungen como agentes bioprotectores (Pothekos *et al.*, 2015). Varias bacterias ácido lácticas (BAL) asociadas a productos cárnicos son importantes productoras de bacteriocinas naturales. Las bacteriocinas son sustancias proteicas antagónicas que son importantes en el control de deterioro (putrefacción) y microorganismos patógenos. El uso de BAL como cultivos biopreservantes para extender la vida útil de la carne fresca puede mejorar la estabilidad y seguridad microbiológica en la conservación de la carne comercial (Parra, 2010).

3.13. Análisis sensorial

La importancia de las evaluaciones sensoriales en las industrias de alimentos y de cuidado personal ha aumentado en los últimos treinta años, se ha vuelto una herramienta indispensable en el estudio, descripción y entendimiento de las propiedades sensoriales de los alimentos. Al igual

que los análisis instrumentales físicos y químicos, la evaluación sensorial contribuye en la determinación de las características intrínsecas de un producto y a comprender mejor el efecto de ingredientes específicos en las características sensoriales de los alimentos, el efecto del almacenamiento, de los cambios en la formulación y las razones de su aceptabilidad por los consumidores (Rousseau, 2004).

En un estudio de almacenamiento el propósito del análisis es establecer el grado de estabilidad, por ejemplo, para definir el momento en que un consumidor encuentra una diferencia en el alimento y atribuir la diferencia a los efectos generados durante el almacenamiento. De modo que en estos casos se recomienda realizar una prueba de discriminación para comparar la muestra dada con respecto a un control (Lawless & Heymann, 2010).

Las pruebas de discriminación son pruebas simples utilizadas principalmente para detectar pequeñas diferencias en la calidad sensorial de productos alimenticios que pueden darse como efecto de cambios en el procesamiento, tiempo de almacenamiento, aditivos nuevos o métodos de empaque (Meilgaard *et al.*, 1999). Entre las pruebas de discriminación más comunes se encuentra la prueba tétrada, en ella se le presenta al panelista series de 4 muestras ordenadas aleatoriamente para que las ordene en pares según similitud. En esta prueba dos de las muestras servidas corresponden al control y las otras dos corresponden a la muestra con alguna variación, de modo que se tiene el objetivo de determinar si los consumidores son capaces de determinar esa diferencia entre las muestras (Zawirska, 2011).

La prueba tétrada permite determinar si dos muestras se perciben diferentes pero no indica la dirección de la diferencia, en otras palabras, no indica el atributo que diferencia las muestras (Lawless & Heymann, 2010); por ello, se trata de correlacionar el momento en que los consumidores encuentran la diferencia, con las mediciones objetivas o instrumentales (físico-químicas) por ejemplo en el caso de un estudio de almacenamiento para evaluar la vida útil de un alimento en específico (Reid *et al.*, 2003).

Para el análisis de los resultados obtenidos con las pruebas explicadas anteriormente se utiliza la estadística binomial. Se han publicado una serie de tablas que utilizan la fórmula binomial para determinar la cantidad de aciertos y la probabilidad de que estos ocurran, las cuales ayudan a determinar si hay una diferencia significativa entre las muestras analizadas en las pruebas de discriminación (Lawless & Heymann, 2010). Con lo que en este caso en particular, podría

determinarse si existe diferencia durante el almacenamiento de muestras de carne control y muestras de carne con biopreservante aplicado.

4. Materiales y Métodos

4.1. Localización del estudio

El deshuese y la molienda de la carne de conejo, proveniente de la empresa Rabbits ubicada en Pacayas de Cartago, se realizó en la Planta Piloto del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA). Los análisis fisicoquímicos requeridos para la ejecución del proyecto se llevaron a cabo en el Laboratorio de Química de la Escuela de Tecnología de Alimentos, mientras que las evaluaciones sensoriales se realizaron en el Laboratorio de Análisis Sensorial de la Escuela de Tecnología de Alimentos, todos ubicados en la sede Rodrigo Facio de la Universidad de Costa Rica, en San Pedro Montes de Oca.

4.2. Materiales

4.2.1. Materia prima

La materia prima para este proyecto corresponde a conejo entero empacado proveniente de la granja de cunicultura productora de carne de conejo y subproductos llamada Rabbits de Costa Rica. Los conejos se cosecharon con entre 75 y 80 días de edad, con un peso aproximado de 2 kg cada uno. Además, cabe destacar que su alimentación se compone de alimento concentrado con los nutrientes requeridos para su desarrollo.

El biopreservante utilizado es el BLC-48® correspondiente a un cultivo de *Lactobacillus curvatus*, de la empresa Chr. Hansen (Dinamarca), distribuido en Costa Rica por la empresa Asesoría en Alimentos Alfa S.A. (ASEAL).

Se utilizaron dos materiales de empaque para el almacenamiento del producto que corresponden a bolsas para empaque al vacío de material poliamida/polietileno (PA/PE) de 90 µm de grosor y dimensiones 15 x 15 cm (Quimifarma, Costa Rica) y empaque en bandejas de poliestireno (Carvajal Empaques S.A, El Salvador) con dimensiones 12x12 cm y cubiertas con film plástico.

4.3. Preparación de muestras y métodos de análisis

4.3.1. Tratamiento de materia prima

La materia prima utilizada fue transportada a los lugares de análisis utilizando hieleras para favorecer su preservación. La carne de conejo recibida fue deshuesada manualmente y

molida utilizando un molino de carne (4B12, Hobart) con disco de 10 mm en sala de cárnicos de Planta Piloto del CITA. El biopreservante se preparó según las recomendaciones del proveedor (Chr. Hansen, Dinamarca) las cuales consisten en disolver la totalidad del sobre del producto en 600 mL de agua y aplicar la disolución equivalente a 0,3% de la masa de la carne antes de ser molida. Cabe destacar que para evitar permanencia de bacterias ácido lácticas en Planta Piloto se realizaron desinfecciones en equipo y utensilios con ácido peracético y con solución desinfectante de alcohol al 70% en agua en donde se ha mostrado que los microorganismos involucrados son susceptibles (Mora & García, 2007).

Para el caso de la carne molida con biopreservante, éste se aplicó a la carne antes de ingresar al molino mediante la incorporación de la disolución y revolviendo manualmente. Una vez molida la carne, se empacó en bolsas de vacío o en bandejas y se almacenaron en refrigeración a 4 °C, temperatura utilizada en el almacenamiento de carnes frescas (MAG, 2011). Los análisis se realizaron a los 0, 3, 7, 10, 14 y 17 días para carne empacada al vacío y a los 0, 3, 5, 7, 10 y 14 días para carne empacada en bandeja con film plástico. Estos puntos de muestreo se seleccionaron mediante los resultados de ensayos de estabilidad microbiológica de la carne molida de conejo elaborados en el Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica. El diagrama de flujo de proceso se muestra en la Figura 4.

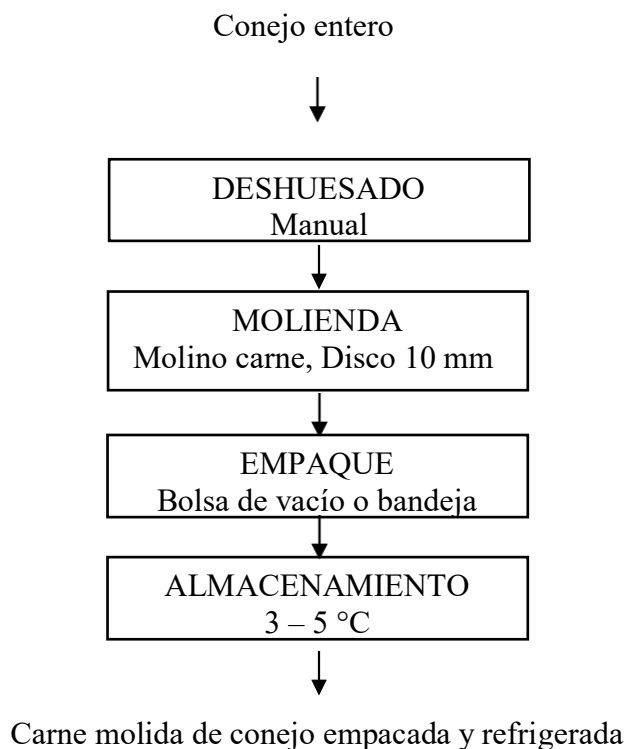


Figura 4. Diagrama de flujo para la obtención de carne molida de conejo empacada y refrigerada.

4.4. Evaluación fisicoquímica de la carne molida de conejo

4.4.1. Diseño experimental

Para evaluar el estudio de almacenamiento de carne molida de conejo con biopreservante añadido según tipo de empaque, se utilizó un diseño de bloques completos al azar con un arreglo factorial 2x2x6 para un total de 24 tratamientos. Los primeros 2 niveles corresponden a la adición de biopreservante (con y sin biopreservante), los otros 2 niveles corresponden a los tipos de empaque a evaluar (bandeja con film plástico y vacío) y los últimos 6 niveles corresponden a los tiempos de almacenamiento (0, 3, 7, 10, 14 y 17 días para vacío o 0, 3, 5, 7, 10 y 14 días para bandeja). Se realizaron 3 repeticiones correspondientes a diferentes lotes de carne de conejo.

4.4.2. Métodos de análisis

- **Evaluación de pH**

Se midió el pH a las muestras de carne de conejo molidas en los tiempos de almacenamiento anteriormente descritos. Se siguió el método descrito por Biswas *et al*, (2012),

el cual consiste en preparar 10 g de la muestra homogenizada con 50 mL de agua destilada, para realizar la medición usando un pHmetro equipado con electrodo de vidrio. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

- **Evaluación del color instrumental**

El color se evaluó a las muestras de carne molida de conejo en sus tiempos de almacenamiento. Se utilizó un colorímetro Hunterlab modelo ColourFlex® (Estados Unidos) y se siguió el procedimiento descrito para la utilización del colorímetro Color Flex EZ (HunterLab, 2018) para la determinación de los parámetros de luminosidad visual, coordenadas cromáticas de rojo y verde y coordenadas cromáticas de amarillo y azul (L^* , a^* , y b^* , respectivamente) del producto. Se trabajó con un ángulo de apertura de 10° y tipo de luz D65. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

- **Determinación de pérdida de peso por exudado**

Se midieron las pérdidas de peso por exudado a las muestras de carne de conejo molidas almacenadas en los tiempos establecidos. Se midió la masa inicial de aproximadamente 70 g de carne molida de conejo, la cual fue empacada en dos tipos de empaques, y en los días correspondientes a la medición se efectuó la medida de la masa final con lo que se pudo aplicar la siguiente fórmula:

$$\% \text{Pérdida por exudado} = \frac{\text{masa inicial (g)} - \text{masa final (g)}}{\text{masa inicial (g)}} * 100$$

- **Determinación del índice de TBA (valor del ácido tiobarbitúrico)**

Se siguió el método descrito por Kirk *et al.* (2008). Esta evaluación consistió en tomar 10 g de muestra y macerar con 50 mL de agua durante 2 minutos. Posteriormente se realizó un lavado en un matraz de destilación con 47,5 mL de agua y luego se adicionan 2,5 mL de ácido clorhídrico 4 M hasta alcanzar pH de 1,5, seguido por la adición de una preparación antiespumante y perlas de vidrio. El matraz se calentó en una plantilla eléctrica para recolectar 50 mL de destilado en 10 minutos a partir del comienzo de la ebullición. Luego, se pipetearon 5 mL de destilado a un tubo de vidrio con tapón y se agregaron 5 mL de reactivo TBA (0,3000 g/100 mL de ácido acético glacial al 90%). La mezcla anterior se tapó, agitó y calentó en baño de ebullición durante 35 minutos. Simultáneamente, se preparó de forma similar un blanco con 5 mL de agua y 5 mL de

reactivo. Posteriormente, los tubos se enfriaron en agua durante 10 minutos y se determinó la absorbancia (D) comparada con el blanco a 538 nm en celda de 1 cm. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado. El número de TBA, expresado en mg de malonaldehído por cada kg de muestra, se calcula de a siguiente manera:

$$\text{Número de TBA} = D * 7,8$$

- **Determinación de NVT (Nitrógeno Volátil Total)**

Se siguió el método descrito por Lücke y Geidel (1935) modificado por Antonacopoulos, detallado por el Instituto de Salud Pública (1998). Se tomaron 10 g de músculo de carne triturado y se introdujeron en un balón de destilación por corriente de vapor. Se añadieron unas gotas de silicona antiespuma y 2 g de óxido de magnesio con 100 mL de agua destilada y se destiló en corriente de vapor, exactamente durante 10 minutos recibiendo en Erlenmeyer de 250 mL con 100 mL de ácido bórico al 3% y con 1 mL de indicador Tashiro, valorando el destilado con ácido clorhídrico 0.01 N. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado. El valor de NVT se calculó a partir de los volúmenes consumidos en la valoración por parte de la muestra y el blanco y la masa de muestra analizada, con la siguiente fórmula:

$$\text{mg N/100 g muestra} = \frac{(V_m - V_b) * N * 0,014 * 100}{m} * 100$$

Donde:

V_m = Volumen de ácido clorhídrico empleado en la valoración de la muestra (mL).

V_b = Volumen de ácido clorhídrico empleado en la valoración del blanco (mL).

N = Normalidad del ácido clorhídrico (N).

m = Masa de la muestra (g).

4.4.3. Análisis de datos

Los resultados fueron evaluados con un análisis de varianza (ANDEVA) utilizando un nivel de confianza del 95% para determinar si existe significancia de los efectos simples y su interacción. El tiempo se evaluó como una variable continua y el empaque y uso de biopreservante como variables nominales. El análisis estadístico se realizó con el software JMP.

4.5. Análisis sensorial

Se aplicó la prueba de discriminación tétrada en donde el panelista debe agrupar en pares las muestras semejantes. A cada panelista se le sirvieron tres tétradas de cuatro muestras cada una, dos correspondientes a la muestra de carne molida con 0 días de almacenamiento y las otras dos correspondientes a muestra de carne molida almacenada en los días seleccionados para la evaluación sensorial, los cuales correspondieron a 7, 10 y 12 días. Cabe destacar que para la evaluación sensorial solo se utilizó producto en óptimas condiciones para el consumo, lo cual se determinó mediante las pruebas fisicoquímicas aplicadas y mediante la ejecución de “*bench testing*” preliminar, donde se evaluó que la carne fuera apta para el consumo y que las diferencias no fueran fácilmente identificables entre las muestras.

Para esta prueba de discriminación se evaluó únicamente la carne molida empacada al vacío debido a que, por razones de costos e interés del estudio, se seleccionó la muestra con mayor estabilidad en el tiempo ya que podría beneficiar mayormente su posible comercialización y consumo.

El análisis sensorial se realizó mediante dos sesiones, en una se evaluó la carne molida sin biopreservante aplicado y en la otra sesión se evaluó la carne molida con el biopreservante. Se evaluaron 71 panelistas en cada panel, lo que asegura una potencia de 95% con un d' de 1,15 (Ennis, 2013).

La carne molida fue condimentada de manera estandarizada, para luego ser cocinada hasta alcanzar una temperatura interna mínima de 72 °C. Las muestras fueron identificadas con números de tres dígitos y balanceadas para ser servidas al consumidor.

Las pruebas fueron realizadas en cubículos individuales con luz roja y se le solicitó a los panelistas que realizaran enjuagues con agua entre cada tétrada. Todos los consumidores firmaron un consentimiento escrito antes de iniciar panel y se les entregó un obsequio por su participación.

4.5.1. Análisis de datos

Para el análisis de datos se comparó el número de aciertos obtenidos por los panelistas en ambas sesiones con el mínimo número de aciertos reportado en las tablas de Roessler *et al.* (1978)

y se obtuvo el d' según las tablas de Ennis (2013), para ver la magnitud de la diferencia entre las muestras de carne molida en los diferentes tiempos de almacenamiento.

5. Resultados y Discusión

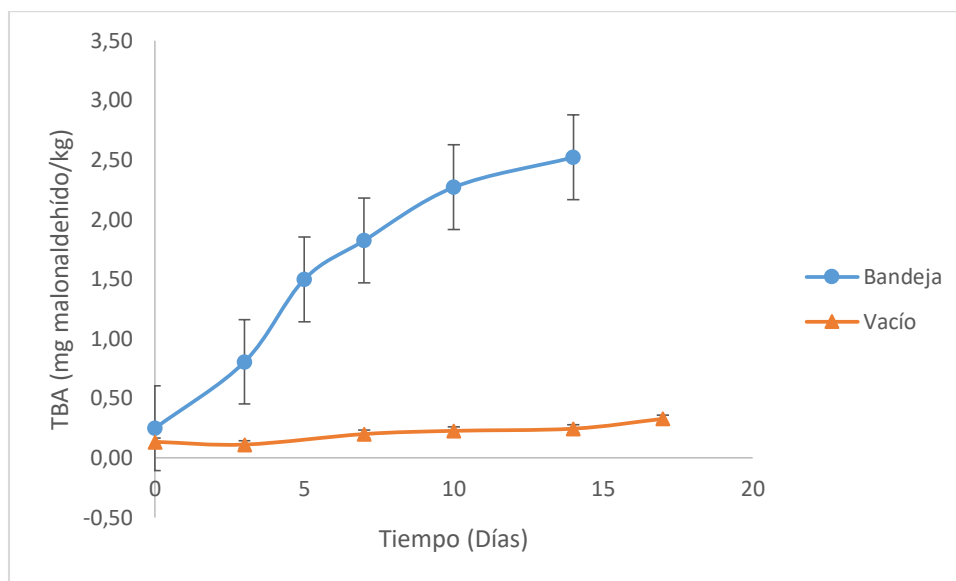
5.1. Evaluación fisicoquímica de la carne molida de conejo en dos tipos de empaque, durante su almacenamiento

Se determinaron los parámetros fisicoquímicos mayormente relacionados a la estabilidad de carne molida durante su almacenamiento en refrigeración. Debido a que el efecto del biopreservante utilizado, BLC-48® correspondiente a un cultivo de *Lactobacillus curvatus*, no fue significativo en ninguna de las variables respuesta analizadas, los resultados presentados a continuación hacen distinción solo entre tipo de empaque utilizado y días de almacenamiento correspondientes. Cabe destacar que la inoculación del biopreservante en la carne molida fue comprobada durante el estudio mediante el recuento de bacterias ácido lácticas elaborado por Guzmán (2019), el cual presentó para el día 0 de almacenamiento una cantidad de $6,73 \pm 0,23$ log UFC/g, concordante con las recomendaciones del fabricante. Además se evidenció que la presencia de la totalidad de bacterias ácido lácticas correspondían a *Lactobacillus curvatus* mediante análisis morfológicos.

En la Figura 5, se observan los resultados de la evaluación de la oxidación lipídica, mediante la determinación del número de TBA. Como se mencionó anteriormente, el análisis de varianza, mostró que no hubo un efecto significativo por parte del biopreservante ($p = 0,5962$) de modo que la aplicación de éste no retarda ni propicia la oxidación el alimento analizado durante el almacenamiento en refrigeración. Aunque el biopreservante utilizado es recomendado para el control de BAL de deterioro (Chr Hansen, 2009), el hecho de no haber presentado efecto en la oxidación se debe a que, en términos generales, las cepas de *Lactobacillus*, que representan gran cantidad de las bacterias ácido lácticas, poseen una actividad lipolítica débil, lo cual quiere decir que no son actoras principales dentro de la descomposición de lípidos responsable en la oxidación (Samaniego & Sosa, 2000). Por otro lado, las lipasas microbianas provenientes de otro tipo de bacterias en las cuales el biopreservante utilizado no genera su efecto, serían las principales responsables de la oxidación lipídica presentada en las muestras analizadas. La presencia de estos microorganismos en donde el biopreservante no generó una disminución significativa en el crecimiento puede demostrarse por el estudio realizado por Guzmán (2019), en donde en la carne molida de conejo, empacada al vacío, con aplicación de biopreservante, se observó un incremento poblacional significativo ($p < 0,05$) de microorganismos psicrótrofos hasta el día 8, pasando de

$3,12 \pm 0,54$ log UFC/g (día 0) a $7,16 \pm 0,41$ log UFC/g (día 8), en este grupo de microorganismos podrían encontrarse aquellos que ejerzan mayor acción en la oxidación lipídica del alimento.

El análisis de varianza además determinó que hay efecto significativo del empaque y del tiempo e interacción empaque*tiempo (probabilidad $< 0,0001$ en todos los casos), de modo que tanto el empaque utilizado como los días de almacenamiento influyen en el desarrollo de la oxidación en la muestra de carne analizada. La tendencia determinada respecto al número de TBA a través del tiempo de almacenamiento se muestra en la Figura 5.



Nota: Líneas verticales corresponden a barras de error.

Figura 5. Número de TBA promedio de las muestras de carne de conejo molida en dos tipos de empaque (vacío y bandeja) según el tiempo de almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

La tendencia anterior muestra cómo la oxidación del producto tiende a aumentar a través del tiempo de almacenamiento y de una forma muy superior en el caso del empaque en bandeja con film plástico, que corresponde a la forma más común de empaquetar carne molida en el mercado nacional. La reacción de oxidación depende de la presencia de oxígeno en el medio, por lo cual es esperable que su desarrollo haya sido muy leve en la carne empacada al vacío, en donde se observa un comportamiento casi constante en cuanto al número de TBA, mientras que en bandeja el comportamiento siempre fue ascendente.

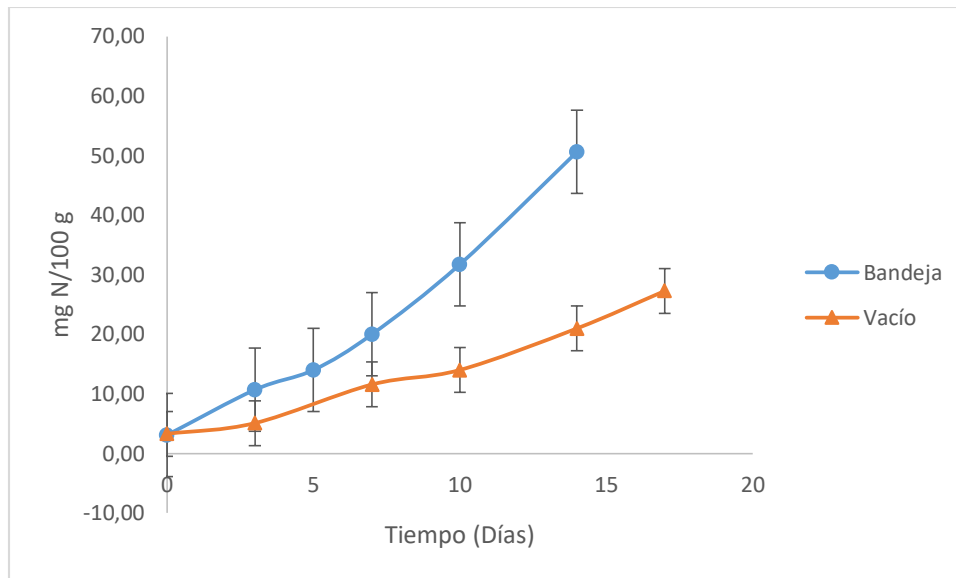
Al analizar los valores obtenidos según los días de almacenamiento, la carne empacada al vacío no sobrepasó el límite de 1 mg de malonaldehído (MDA) por kg, valor reportado como máximo de TBA aceptable para un alimento (Candogan & Kolsarici, 2003). Sin embargo, para el caso de la carne molida empacada en bandeja para el día 5 de almacenamiento presentó un número de TBA de 1,50, indicando que la carne ya tenía niveles de oxidación inaceptables para su consumo.

La oxidación lipídica es particularmente importante para el caso de la carne de conejo, ya que ésta presenta un mayor contenido de ácidos grasos poliinsaturados (Cifuni *et al.*, 2016), y aunque esto la hace excepcionalmente beneficiosa para la salud humana, estos lípidos pueden sufrir alteraciones durante su almacenamiento en refrigeración consecuencia de la lipólisis y oxidación de las grasas. El resultado es el deterioro acelerado de la calidad de este tipo de carne, como puede apreciarse en el comportamiento del TBA a través del tiempo (Figura 5). En contraste, estudios de oxidación lipídica en carne molida de res almacenada en refrigeración y con exposición al oxígeno han alcanzado un valor de TBA inferior a 0,9 mg MDA/kg en el día 6 (Fruet *et al.*, 2019), considerablemente inferior al valor observado en carne de conejo empacada en bandeja incluso con menos días de almacenamiento.

A pesar de que no hay estudios similares en carne molida de conejo, en piezas enteras de esta misma especie, se han observado valores de número de TBA de 0,31 mg MDA/kg para el día 0, 0,92 mg MDA/kg para el día 6 y 2,07 mg MDA/kg para el día 12 (Cifuni *et al.*, 2016), siempre mayores a los reportados para carne de res, confirmando que la oxidación lipídica en carne de conejo predomina más que en otras especies con menor contenido de ácidos grasos insaturados. Además que en carne molida se pueden presentar valores aún superiores, por ejemplo por exposición de líquidos celulares y mayor área superficial, ya que como puede apreciarse se han reportado valores de 0,92 mg MDA/kg para el día 6 en piezas enteras mientras que en las determinaciones efectuadas en este caso para carne molida de conejo se presentaron valores superiores a 1,0 mg MDA/kg incluso antes del día 5. De modo que es conveniente utilizar estrategias para brindarle mayor conservación al alimento. En este sentido resultó particularmente efectivo el empaque al vacío que contuvo la oxidación lipídica a través de los 17 días de almacenamiento.

La determinación de NVT se utiliza para cuantificar el contenido de nitrógeno volátil total en el producto el cual está relacionado al deterioro proteico del mismo, de modo que es un parámetro directamente asociado a la calidad de la muestra cárnica. El análisis estadístico realizado, correspondiente a un análisis de varianza, mostró que no hubo un efecto significativo por parte del biopreservante ($p = 0,4197$) de modo que la aplicación de este no retarda ni propicia el contenido de nitrógeno del alimento analizado a través del almacenamiento en refrigeración. De manera similar a lo ocurrido en la descomposición lipídica, las cepas de *Lactobacillus* no ejercen una actividad proteolítica fuerte como otros microorganismos de deterioro, de modo que no generan una descomposición proteica tan considerable que se puede ver reflejada con el nitrógeno volátil total; sin embargo, al biopreservante no impedir el aumento de otros microorganismos como lo fueron los psicrótrofos, pudieron generarse proteasas microbianas que deterioraron el producto aún en la presencia del biopreservante utilizado (Samaniego & Sosa, 2000).

El análisis de varianza además determinó que hay efecto significativo del empaque y del tiempo e interacción empaque*tiempo ($p < 0,0001$ en todos los casos), de modo que tanto el empaque utilizado como los días de almacenamiento influyen en la formación de nitrógeno volátil en la muestra producto de la descomposición proteica. La tendencia determinada respecto al contenido de NVT a través del tiempo de almacenamiento se muestra en la Figura 6.



Nota: Líneas verticales corresponden a barras de error.

Figura 6. Nitrógeno volátil total promedio de las muestras de carne de conejo molida en dos tipos de empaque (vacío y bandeja) según el tiempo de almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

La tendencia anterior muestra cómo el contenido de nitrógeno volátil total tiende a aumentar a través del tiempo de almacenamiento y de una manera superior en el empaque en bandeja que en el empaque al vacío, representando nuevamente que el empaque al vacío mantendría por más tiempo parámetros de calidad deseados en el producto, en comparación al empaque en bandeja tal y como se observó al analizar el número de TBA. Sin embargo, en este caso el comportamiento se debe al tipo de microorganismos que el medio permite que se desarrollen, ya que en condiciones de vacío predominan las BAL, que como se mencionó, no tienen tanta capacidad proteolítica. Mientras que en condiciones aerobias como en el empaque en bandeja predominan microorganismos de deterioro capaces de descomponer proteínas (Viuda *et al.*, 2010). La interacción empaque*día en este caso se presentó debido a que las rectas se intersecaron en el día 0, momento en el que no había efecto de preservación debido al empaque, pero a partir del día 3 y en adelante se observa una tendencia al crecimiento en ambos casos.

Hay poca información sobre los valores de NVT que determinan la vida útil en carne de conejo, por ejemplo, Badr (2004) reporta que valores superiores a 50 mg N/100g la carne en corte entero es rechazada sensorialmente. Por otro lado, otros estudios utilizan el valor sugerido para la

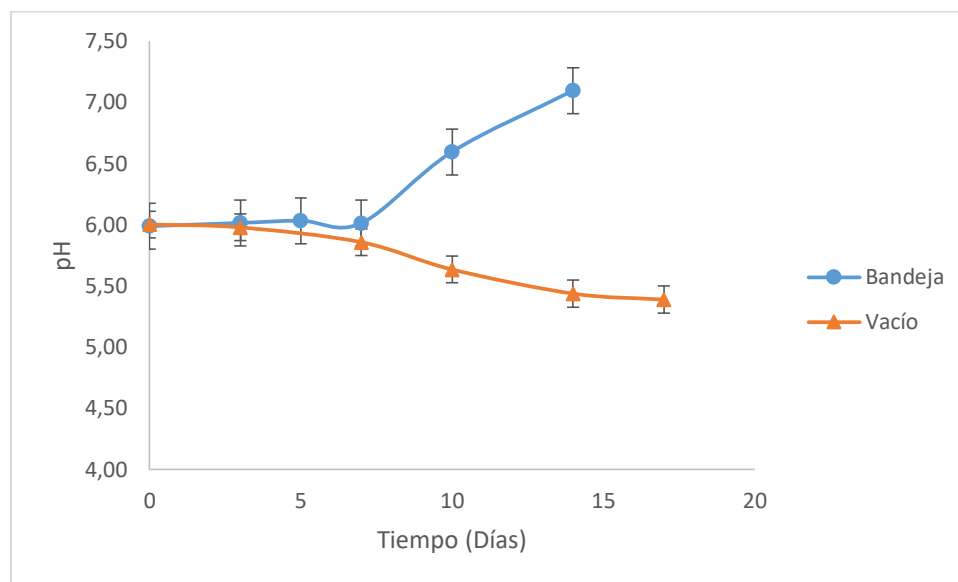
carne de res, 15 mg N/100g, para definir el tiempo en que la carne es considerada no apta para el consumo (Li *et al.*, 2019). En el caso del presente estudio mediante evaluaciones sensoriales informales de la muestra de carne molida, se observó deterioro visible (apariencia y olor) a los 7 días para el caso de la muestra empacada en bandeja y al día 14 para la muestra empacada al vacío, de modo que es de esperar que un consumidor regular evitaría comer la muestra luego de esos días. Según lo descrito anteriormente, para el caso de la carne molida de conejo analizada podría considerarse que se encuentra en condiciones inadecuadas para el consumo con un valor de NVT superior a 20 mg N/100 g, esta variación a lo reportado en la literatura puede deberse a que en este caso se trata de carne molida, la cual tiende a tener un deterioro acelerado por su alta manipulación y ruptura de células durante la molienda (Mahecha, 2004).

La determinación del pH puede relacionarse con la actividad microbiana en la muestra analizada por la generación de subproductos producidos durante el metabolismo de las bacterias que generan disminución o ascenso del pH. El análisis estadístico realizado, correspondiente a un análisis de varianza, mostró que no hubo un efecto significativo por parte del biopreservante ($p = 0,0650$), de modo que la aplicación de este mediante las condiciones realizadas no propicia una variación considerable en la acidez/alcalinidad del alimento analizado almacenado en refrigeración.

El pH es una de las razones por las cuales la carne en general se considera un alimento potencialmente peligroso, ya que el rango en el que se encuentra es óptimo para que las bacterias de descomposición tomen acción. En este caso, cuando el pH comienza a ascender el producto podría encontrarse en ese momento como no apto para el consumo (Macanga *et al.*, 2011). Por otro lado, la disminución del pH podría considerarse como un medio de protección ante el deterioro microbiano en productos cárnicos, incluso mediante la acción del ácido láctico generado por las BAL. De ahí que exista discusión con respecto a que las BAL sean las principales causantes del deterioro de productos cárnicos o si más bien podrían ser utilizadas como agentes biopreservantes para aumentar la vida útil de estos productos (Pothekos *et al.*, 2015). Sin embargo, como se mencionó anteriormente no hubo diferencia significativa por parte del biopreservante en los resultados de pH a pesar de que se inocularon bacterias ácido lácticas con el fin de favorecer la preservación del producto. Lo anterior se sustenta con el estudio elaborado por Guzmán (2019), en donde se mostró diferencia significativa únicamente en el día 0 del muestreo de carne de conejo molida control y carne de conejo molida con biopresevante aplicado, siendo de $5,00 \pm 0,43$ log

UFC/g para el caso de la carne control y de $6,73 \pm 0,23$ log UFC/g en el caso de la carne con biopreservante aplicado. Pero posteriormente los recuentos obtenidos de bacterias ácido lácticas para carne control o con biopreservante no presentan diferencia estadística.

El análisis de varianza además determinó que hay efecto significativo del empaque y del tiempo e interacción empaque*tiempo ($p < 0,0001$ en todos los casos), de modo que tanto el empaque utilizado como los días de almacenamiento influyen en la variación del pH de la muestra de carne molida de conejo producto de la actividad microbiana predominante específica en cada caso y la generación de subproductos de descomposición. La tendencia determinada respecto al pH a través del tiempo de almacenamiento se muestra en la Figura 7.



Nota: Líneas verticales corresponden a barras de error.

Figura 7. pH promedio de las muestras de carne de conejo molida en dos tipos de empaque (vacío y bandeja) según el tiempo de almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

La tendencia anterior muestra cómo el pH de la carne de conejo empacada al vacío tiende a disminuir mientras que en la muestra empacada en bandeja tiende a aumentar. Este comportamiento inverso explica la interacción empaque*tiempo observada.

Los valores obtenidos para el pH en el día 0 correspondieron a 6,00 en el caso de la carne molida de conejo empacada al vacío y 5,99 en el caso de la carne empacada en bandeja. Estos

valores se encuentran dentro del rango normal de pH establecido para carne de conejo el cual se ha reportado entre 5,70 y 6,00 (Furukawa *et al.*, 2004).

Las variaciones de pH son producto de la descomposición del alimento por parte de la acción microbiana, en donde al empacar al vacío, predomina el crecimiento de bacterias ácido lácticas (BAL), ya que éstas se consideran como psicrófilas y microaerofílicas, lo cual quiere decir que sus condiciones óptimas de actividad son bajas temperaturas, como las de refrigeración y ambientes con muy poco contenido de oxígeno, como el que se pudo generar mediante el empaque al vacío. Las BAL generan ácido láctico en su metabolismo produciendo una disminución del pH durante la descomposición del alimento (Franz & Von Holy, 1996) como la observada en la Figura 7. En el estudio desarrollado por Guzmán (2019), se observó un incremento significativo de bacterias ácido lácticas en la carne molida de conejo empacada al vacío entre los 0 y 7 días de almacenamiento, alcanzando la fase estacionaria con un recuento de $7,84 \pm 0,44$ log UFC/g para el día 7, valores que explican la disminución de pH observada en este estudio para el empaque al vacío.

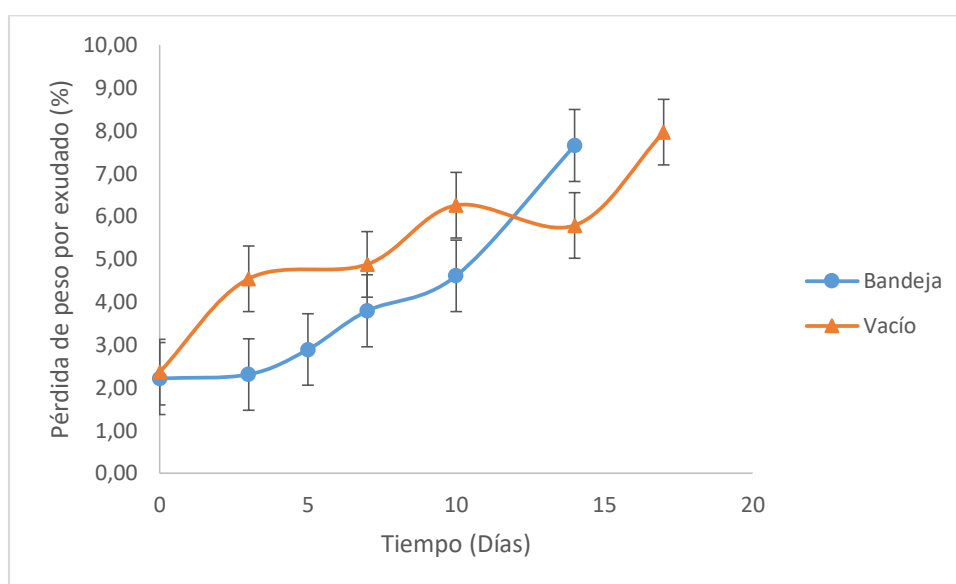
Por otro lado, en el empaque correspondiente a bandeja con film plástico, la incorporación de aire no genera el ambiente propicio para el desarrollo predominante de las BAL, en este caso son bacterias de deterioro Gram - psicrotóficas las que se encargan de descomponer proteínas, y que durante su crecimiento generan un aumento del pH (Viuda *et al.*, 2010).

Al analizar los resultados obtenidos anteriormente, tanto los de TBA como los de NVT, podría inferirse que el empaque al vacío es más apropiado para la preservación de la carne molida de conejo. Sin embargo, como se observa en el pH, la muestra cárnica empacada al vacío nunca presenta pH inferior a 4,6 de modo que podría existir un peligro asociado a *Clostridium botulinum* y la producción de su toxina si las cadenas de frío se rompen durante su comercialización y consumo (Solomon *et al.*, 2001). Por lo que resultaría conveniente analizar el efecto del biopreservante ante *Clostridium botulinum*, que al ser un mal competidor podría verse inhibido por el crecimiento de bacterias ácido lácticas.

La determinación de la pérdida de peso por exudado puede relacionarse con la calidad de la carne ya que ésta se asocia directamente a la capacidad de la carne para retener agua. El agua corresponde a casi un 75% de la composición de la carne de conejo, por lo que pérdidas de la misma se relacionan a afectaciones en la textura, características sensoriales y físicas, así como

disminución de peso que se traduce en mayores costos e ineficiencias de producción (Gonzales & Ibsen, 2010). De acuerdo con los resultados del análisis de varianza, se mostró que no hubo un efecto significativo por parte del biopreservante ($p = 0,4059$) de modo que la aplicación de este mediante las condiciones realizadas no propicia una variación considerable en la pérdida de peso por exudado de las muestras analizadas. Lo anterior puede asociarse a que el biopreservante y el tipo de microorganismos sobre el que este tiene acción, no son considerables descomponedores proteicos en donde se asocia directamente la retención de agua del producto, como sí lo son otros microorganismos de deterioro (Samaniego & Sosa, 2000).

El análisis de varianza además determinó que hay efecto significativo del tiempo ($p < 0,0001$) aunque no hubo efecto del empaque ($p = 0,1938$), de modo que los días de almacenamiento influyen en la variación de la pérdida de peso por exudado de la muestra de carne molida de conejo producto de la pérdida de calidad. La tendencia determinada respecto a la pérdida de peso por exudado a través del tiempo de almacenamiento se muestra en la Figura 8.



Nota: Líneas verticales corresponden a barras de error.

Figura 8. Porcentaje de pérdida de peso por exudado promedio de las muestras de carne de conejo molida en dos tipos de empaque (vacío y bandeja) según el tiempo de almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

La tendencia anterior muestra cómo el porcentaje de pérdida de peso por exudado de la muestra cárnica aumenta a lo largo del tiempo de almacenamiento. Esto debido a que conforme la

descomposición de la carne avanza, también disminuyen sus atributos de calidad como la capacidad de retención de agua producto, principalmente de la descomposición de proteínas responsables de formar una red para contener el agua (Rengifo & Ordóñez, 2012). Estudios han demostrado que el empaque de productos cárnicos al vacío son efectivos para reducir el exudado, ya que la forma en que el empaque se adhiere en el contorno del producto forma una “segunda piel” que lo fortalece y evita así pérdida de agua (López *et al.*, 2013). Además, como anteriormente se ha mencionado, la ausencia de aire desfavorece a los microorganismos de deterioro proteolíticos que aumentan la pérdida de agua por exudado (Viuda *et al.*, 2010). Sin embargo, en este estudio no se encontró diferencia significativa por el tipo de empaque, esto pudo no haberse presentado debido a que se está trabajando con carne molida, en donde el hecho de haber generado rompimiento mecánico del producto genera debilitamiento de la red proteica encargada de la retención de agua (Gonzales & Ibsen, 2010) y en donde se dificulta la generación de la “segunda piel” en el empaque al vacío pues el contorno del producto no es tan homogéneo como lo sería una pieza entera, dificultando esa resistencia que en otras condiciones el empaque al vacío podría propiciar (López *et al.*, 2013).

La determinación de pérdida de peso por exudado se realiza principalmente para obtener un parámetro relacionado a costos de la carne, ya que la pérdida de agua está relacionada a menor masa, y por lo tanto a un menor precio de venta. En lo que respecta propiamente a calidad, en cárnicos se acostumbra a utilizar una medición llamada volumen de extracto liberado (VEL), que corresponde a la medición en mL del exudado generado por la carne. Se ha establecido que una carne en general no apta para el consumo ha liberado al menos 17 mL de exudado (Moreno, 2006). Considerando que el exudado obtenido corresponde principalmente a agua, el equivalente en mL de los gramos medidos para las muestras de carne molida de conejo analizadas nunca supera los 9 mL. Sin embargo, debe tenerse presente que el método de determinación de VEL no ha sido ejecutado en muestras de carne molida, en donde las fuerzas involucradas deterioran las redes proteicas que atrapan el agua y se pierde exudado del alimento producto de la manipulación (Gonzales & Ibsen, 2010). Por esta razón, no puede asociarse un valor máximo de pérdida de peso por exudado en este caso en donde, de superarse, ya la carne molida se encuentre no apta para su consumo. Sin embargo, puede establecerse la relación directa que existe entre la pérdida de peso por exudado con la descomposición y pérdida de calidad del producto analizado, independientemente del tipo de empaque (Moreno, 2006).

La determinación del color se realizó utilizando la escala CIEL*a*b*, los resultados de los parámetros L*, a*, b* se observan en el Cuadro 4. El análisis estadístico realizado, correspondiente a un análisis de varianza, mostró que no hubo un efecto significativo por parte del biopreservante ($p = 0,4746$ para L*, $p = 0,9982$ para a* y $p = 0,7763$ para b*), de modo que la aplicación de éste mediante las condiciones realizadas no propicia una variación considerable en los parámetros de color en la carne molida de conejo.

Cuadro 4. Parámetros L*, a* y b* promedio de las muestras de carne de conejo molida en dos tipos de empaque (vacío y bandeja) según el tiempo de almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

Empaque	Parámetro		
	L*	a*	b*
Bandeja	59,81±1,77 ^a	5,68±1,20 ^a	16,15±1,08 ^a
Vacío	59,75±1,43 ^a	7,23±1,29 ^b	14,21±1,34 ^b

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre resultados

Para el parámetro L*, el cual representa el grado de luminosidad del alimento, el análisis de varianza determinó que hay interacción empaque*tiempo ($p = 0,0050$). Lo cual indica que aunque el parámetro haya variado con respecto al tiempo, no hubo un empaque que siempre mantuviera un valor superior o inferior en el parámetro L* en comparación con el otro tipo de empaque.

Al observar los resultados del Cuadro 4, se aprecia que el valor de L* de la carne analizada se encuentra cercano a 60. El resultado obtenido es comparable con el de otros estudios que han determinado que el L* en carne de conejo de especie Nueva Zelanda tiene un valor promedio de 63,09 y que además corresponde a la especie que presenta mayor luminosidad al comparar con otras especies de conejo y otros tipos de carne (Hernández *et al.*, 2015).

El parámetro L* puede asociarse con calidad del producto cárnico ya que el brillo en la superficie de la carne puede sugerir un menor signo del deterioro y un producto más apetecible. Sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre el tipo de empaque ($p = 0,9529$) y los días de almacenamiento ($p = 0,2055$). Resultados similares se han observado en estudios de

almacenamiento de productos cárnicos empacados al vacío y con exposición al oxígeno en donde no hay variación del L^* a través del tiempo (Larenas, 2016).

La determinación del parámetro a^* es utilizada para determinar la intensidad del color rojo en productos cárnicos. El análisis de varianza determinó que hay un efecto del empaque ($p < 0,0001$) y la interacción empaque*tiempo ($p = 0,0002$) sobre este parámetro de color; sin embargo, no se evidenció un efecto del tiempo de almacenamiento ($p = 0,1943$).

Los resultados experimentales mostraron que en el caso del día 0, fue el único momento en que la muestra empacada al vacío presentó un valor inferior en el parámetro a^* en comparación a la muestra empacada en bandeja, de ahí el origen de la interacción empaque*tiempo. A pesar de esto, en términos generales se obtuvo un valor superior del parámetro utilizando el empaque al vacío, probablemente porque evita la oxidación, como se ha indicado anteriormente, lo cual genera variaciones de color (Ramírez, 2004).

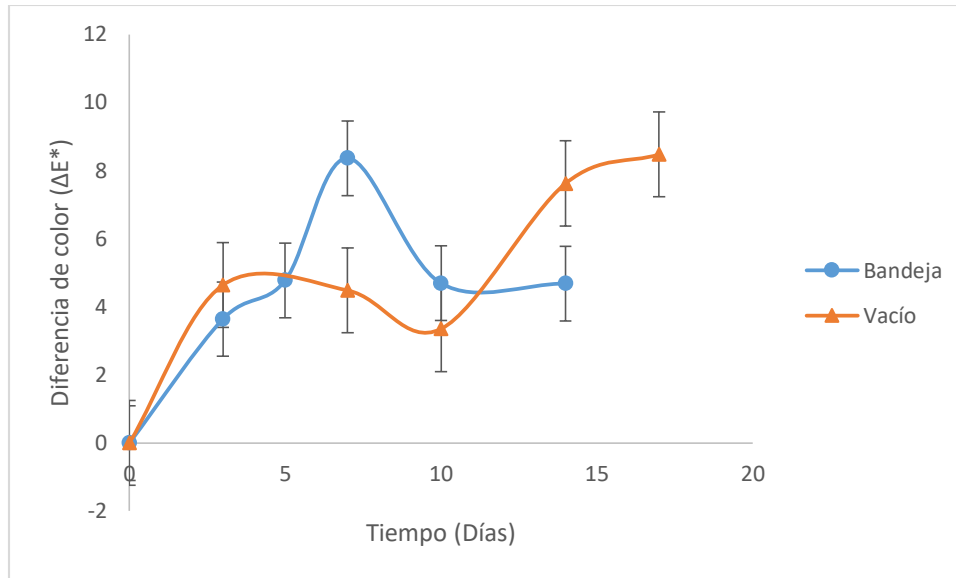
En comparación a la carne bovina, la intensidad de color rojo de la carne de conejo es inferior. Se indica que para carne de res fresca el valor normal del parámetro a^* es de aproximadamente 16,00 (Larenas, 2016), mientras que en la especie de conejo analizada se han reportado valores del parámetro de hasta 2,13, siendo considerablemente inferiores a los determinados en este caso (Hernández *et al.*, 2015).

En lo que respecta al tipo de empaque, estudios de almacenamiento en carne bovina ha reportado disminuciones considerables de la intensidad del color rojo a través del tiempo en carne empacada al vacío, de modo que no se le haya visto una gran ventaja a este tipo de empaque en este sentido (Larenas, 2016). Entre las razones principales de esto se encuentra el hecho de que la mioglobina en ausencia de oxígeno sufre una reacción que genera oscurecimiento por la generación de metamioglobina en la carne que puede afectar la apariencia en el anaquel, y por ende la intención de compra del consumidor (Fernández & O'Neill, 1993). Sin embargo, aunque el acontecimiento anterior también se ha demostrado en conejo, los resultados obtenidos sugieren que en carne de conejo molida puede almacenarse en este tipo de empaque sin que el producto sufra de una pérdida de la intensidad del color rojo, parámetro que no es tan representativo en este tipo de carne al no presentar una coloración roja predominante como en el caso de la carne de res (Alvis *et al.*, 2017).

En cuanto a la medición del parámetro b^* , este es utilizado para determinar la intensidad del color amarillo en productos cárnicos. El análisis de varianza determinó que hay efecto significativo del empaque e interacción empaque*tiempo (probabilidad $< 0,0001$ en ambos casos), pero no así del tiempo de almacenamiento. En los resultados presentados en el Cuadro 4 puede apreciarse que en el caso de la carne molida de conejo empacada al vacío, se presentó un menor valor para el parámetro b^* en comparación a la carne empacada en bandeja, en donde la variable obtuvo un valor superior a 16,00, por lo que puede asociarse mayor intensidad de color amarillo en el empaque en bandeja.

En otros estudios se han reportado valores normales del b^* para carne de conejo de la especie analizada entre 12,61 y 14,02 con 0 días de almacenamiento (Hernández, 2015), de modo que puede apreciarse que efectivamente el hecho de utilizar empaque en bandeja (expuesto al oxígeno) genera un aumento en la intensidad del color amarillo. Los valores normales reportados para carne de conejo no representan una intensidad de color amarillo considerable debido a que se encuentran cercanos a la escala de grises dentro del círculo cromático; sin embargo, el hecho de acercarse a valores superiores a 16,00, ya empieza a representar mayor importancia en lo que respecta al color amarillo que en este caso está asociado a pérdida de calidad del producto, ya que la aparición de este color puede asociarse a la oxidación del alimento o a la actividad microbiana de descomposición (Alvis, 2017). Por esta razón, se puede mantener el color normal por mayor tiempo con la utilización del empaque al vacío, durante el almacenamiento en refrigeración de carne molida de conejo.

La determinación del parámetro ΔE^* indica la variación de color general a nivel de los parámetros L^* , a^* y b^* de modo que puedan ser comparados contra una muestra patrón, que en este caso correspondería a la muestra analizada con 0 días de almacenamiento. El ANDEVA mostró que no hubo un efecto significativo por parte del biopreservante ($p = 0,3749$), como era de esperar al no observarlo en ninguna de las características que lo componen. Sin embargo, sí se obtuvo un efecto significativo del tiempo ($p = 0,0001$), lo cual indica que hay una variación general en el color de la muestra a través del tiempo de almacenamiento, aunque sin dependencia del tipo de empaque utilizado ($p = 0,7427$). Los valores determinados ΔE^* según el día de almacenamiento en refrigeración correspondiente se muestran en la Figura 9.



Nota: Líneas verticales corresponden a barras de error.

Figura 9. Diferencia de color (ΔE^*) promedio de las muestras de carne de conejo molida en dos tipos de empaque (vacío y bandeja) según el tiempo de almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

Para la interpretación del parámetro ΔE^* , se debe tener presente que entre mayor sea el valor del mismo, mayor es la variación general de color de la muestra correspondiente con respecto a la muestra patrón, que en este caso corresponde a la carne con cero días de almacenamiento (Mokrycki & Tatil, 2012). Se considera que variaciones inferiores a una magnitud de 1,5 son prácticamente imperceptibles visualmente, mientras que variaciones mayores a una magnitud de 5,0 se diferencian evidentemente (Obón *et al.*, 2009). Se observa el valor mayor para el día 17 con empaque al vacío, en el cual la muestra tenía un grado de descomposición más avanzado, indicando variaciones de color en los parámetros de a^* y b^* principalmente como se describió anteriormente. En este caso y por la diferencia de color obtenida, se podría diferenciar evidentemente la coloración de la muestra respecto al patrón, de igual manera sucede en la muestra empacada en bandeja con 7, 10 y 14 días de almacenamiento.

Sin embargo, a pesar de las diferencias observadas en los tiempos de almacenamiento, únicamente con color instrumental no se puede inferir que una mayor variación en el color en términos de ΔE^* es sinónimo de rechazo, por lo que esto debería evaluarse mediante una evaluación sensorial complementaria. No obstante, el análisis de los parámetros L^* , a^* y b^* por

separado permitió identificar dónde están las principales variaciones en el color y relacionarlas con aspectos de calidad del producto, en donde el empaque al vacío resultó más ventajoso.

5.2. Efecto del uso de un biopreservante sobre la percepción de cambios sensoriales de carne molida de conejo

Para la evaluación sensorial, se utilizó únicamente el empaque al vacío, porque, de acuerdo con los resultados de los parámetros fisicoquímicos, este empaque es el que tiene mayor posibilidad de alargar la vida útil del producto.

La prueba de discriminación denominada tétrada inespecífica se realizó utilizando carne molida con 0 días de almacenamiento como carne patrón, y se comparó con carne molida de 7, 10 y 12 días de almacenamiento. Se ejecutaron 2 paneles sensoriales, en donde en uno se utilizó carne con biopreservante aplicado y en otro se utilizó producto con los mismos días de almacenamiento pero sin la aplicación de biopreservante. Los resultados en cuanto a aciertos obtenidos y d' determinados, con los respectivos datos de probabilidad exacta, se muestran en el Cuadro 6.

Cuadro 5. Número de aciertos y d' obtenidos en las pruebas tétradas para carne molida de conejo con y sin biopreservante evaluada por 71 panelistas en cada caso, con los respectivos valores de probabilidad fija y probabilidad exacta.

Panel	Prueba	Aciertos	Mínimo	d'	p exacta
Sin biopreservante	Patrón vs 7 días almacenamiento	25	31	0,32	0,409
	Patrón vs 10 días almacenamiento	32		0,84	0,026
	Patrón vs 12 días almacenamiento	36		1,05	0,002
Biopreservante	Patrón vs 7 días almacenamiento	43		1,24	< 0,001
	Patrón vs 10 días almacenamiento	40		1,38	< 0,001
	Patrón vs 12 días almacenamiento	50		1,84	< 0,001

El cuadro anterior muestra la cantidad de aciertos obtenidos para cada una de las pruebas tétrada que se ejecutaron, para este caso que se tenían 71 panelistas por lo que para tener diferencia significativa entre las muestras con un 95% de confianza, dada la probabilidad fija, el mínimo número de aciertos es de 31 (Ennis, 2013). También se reportan los valores de probabilidad exacta que cuando son inferiores a la probabilidad fija, 0,05 en este caso, permiten establecer mayor

precisión y fundamentación de las decisiones tomadas, pues disminuye la probabilidad de cometer error estadístico (Rogers, 2017). En el cuadro anterior también se muestran los d' calculados mediante la proporción de aciertos y utilizando como referencia las tablas de Ennis (2013).

Solo se encontró diferencia entre la muestra almacenada por 7 días respecto a la muestra de cero días de almacenamiento cuando no se aplicó biopreservante, en el resto de comparaciones los consumidores encontraron diferencia. Sin embargo, los valores de d' para los días 7, 10 y 12 días de almacenamiento fueron inferiores o cercanos a 1. Tomando en cuenta que un valor de d' de 1,00 es considerado el valor de umbral, es decir es el valor en el cual la diferencia comienza a ser detectada por el consumidor (O'Mahony, 1986), valores inferiores de d' pueden indicar que no hay diferencia perceptible entre las muestras analizadas en un escenario real de consumo, donde la muestra de referencia no es probada una a la par de la otra. De la misma forma, se puede observar que los valores de d' aumentan conforme aumenta el tiempo de almacenamiento, esto podría atribuirse al inicio de la descomposición del producto.

En el caso de la carne con biopreservante aplicado, las diferencias entre muestras fueron mucho más notorias, ya que no solo se observan un número de aciertos mayor a 31 en todos los casos, sino que además presentó altos valores de d' . En este caso, también se percibieron mayores diferencias con el aumento de los días de almacenamiento, probablemente debido al incremento en el deterioro del producto. Asimismo, la percepción de diferencias significativas hasta en el día 7 de almacenamiento pudo deberse a que el biopreservante generó diferencias sensoriales notorias, lo cual es un resultado interesante considerando que el fabricante reporta que no produce sabores, ni olores distintos a la carne original. Estas diferencias pueden atribuirse a la aplicación del biopreservante, ya que al haber analizado anteriormente los parámetros fisicoquímicos, se determinó que no hubo efecto significativo por el mismo, de modo que las diferencias observadas en la evaluación sensorial no deberían ser causadas por el deterioro. Sin embargo, es recomendable la ejecución de un panel sensorial de agrado general, con el fin de determinar si las diferencias percibidas en la evaluación sensorial realizada a la carne con biopreservante son deseadas o, por el contrario, menos aceptadas por parte de los consumidores.

Otra razón por la que no pueden atribuirse las diferencias observadas al deterioro del producto es por el comportamiento microbiológico presentado en el estudio desarrollado por Guzmán (2019), en donde no se observó diferencia significativa en cuanto a recuentos

microbiológicos entre la carne sin biopreservante y la carne con biopreservante. Sin embargo, en este mismo estudio se reporta que las poblaciones microbiológicas de ambos tratamientos sí son distintas, identificando que la totalidad de las BAL en la carne con biopreservante correspondía a *Lactobacillus curvatus*, por lo que las diferencias sensoriales observadas podrían atribuirse a las distintas poblaciones microbiológicas. Este resultado tiene relevancia desde el punto de vista de aplicación del biopreservante a la carne fresca, ya que, a pesar de que el producto aplicado no tuvo efectos sobre la vida útil del producto, se ha demostrado que sí tiene un efecto inhibitorio significativo en el crecimiento del patógeno *Listeria monocytogenes* (Guzmán, 2019), por lo que la afectación del sabor es un factor que se debe tomar en cuenta en caso de que se desee aplicar por sus funcionalidades bioprotectoras en cuanto a control de patógenos.

Respecto al producto analizado, a pesar de que la aplicación del biopreservante no presentó efecto significativo en cuanto a prolongación de la vida útil del producto, el tipo de empaque resultó una importante alternativa, siendo el empaque al vacío el mejor para este propósito. Además, mediante las evaluaciones fisicoquímicas y sensoriales desarrolladas y el sustento en el estudio microbiológico realizado por Guzmán (2019), es posible estimar un tiempo de almacenamiento recomendado para que la carne molida de conejo empacada al vacío y almacenada en refrigeración se mantenga apta para su consumo.

Desde el punto de vista microbiológico, el recuento de BAL y psicrótrofos en la carne molida de conejo alcanzaron la fase estacionaria en el día 7 de almacenamiento con valores de 7 log UFC/g (Guzmán, 2019), valor límite de crecimiento microbiano donde se empiezan a producir signos de deterioro (González *et al.*, 2014). No obstante, considerando las pruebas fisicoquímicas desarrolladas, principalmente los resultados obtenidos en cuanto a número de TBA y NVT, los valores límite establecidos se superan como no aptos para el consumo hasta el día 14. Asimismo, el análisis sensorial realizado indicó que las diferencias percibidas en las muestras hasta el día 12 de almacenamiento fueron pequeñas y el producto se mantenía apto para consumo. Por estas razones, se puede sugerir que la carne molida de conejo empacada al vacío se mantiene estable hasta 12 días de almacenamiento, manteniendo un factor de seguridad para no superar los valores de pruebas fisicoquímicas inapropiados para el consumo. Sin embargo, es importante recalcar que, con 12 días de almacenamiento se percibió diferencia y se obtuvo un d' de 1,05 en este caso, por lo que sería conveniente realizar una evaluación sensorial de agrado que valide que las muestras son todavía aceptables para ser consumidas.

6. Conclusiones

- El biopreservante BLC-48® de la casa proveedora Chr. Hansen no tiene efecto en el mejoramiento de las propiedades fisicoquímicas de número de TBA, NVT, pH y parámetros de color en carne molida de conejo empacada al vacío o en bandeja con film plástico, almacenada en refrigeración.
- El empaque al vacío, bajo las condiciones evaluadas, evita la oxidación lipídica de la carne molida de conejo obteniendo niveles inferiores a 1 mg/100g de TBA durante 17 días de almacenamiento.
- El empaque al vacío, bajo las condiciones evaluadas, evita la descomposición proteica de la carne molida de conejo con lo que se retarda considerablemente el aumento del nitrógeno volátil total presente en el alimento a través del tiempo.
- La utilización de empaque al vacío genera disminución de pH a través del tiempo de almacenamiento en refrigeración en la carne molida de conejo, mientras que al empacar en bandeja se genera aumento del pH. En ambos casos producto de los microorganismos que se desarrollan prioritariamente en cada ambiente.
- El comportamiento de la pérdida de peso por exudado es ascendente e independiente del tipo de empaque en carne molida de conejo almacenada en refrigeración.
- El empaque en bandeja genera valores inferiores del parámetro a* y valores superiores del parámetro b* en carne molida de conejo a través del tiempo de almacenamiento en refrigeración en comparación al empaque al vacío, lo cual puede estar asociado a pérdida de calidad del producto.
- De forma general, el almacenamiento en refrigeración con empaque al vacío en carne molida de conejo mantiene por más tiempo la calidad del producto en comparación a la utilización del empaque en bandeja con film plástico en lo que respecta a los parámetros evaluados.
- Las diferencias sensoriales en carne molida de conejo empacada al vacío almacenada en refrigeración son identificadas por los consumidores considerablemente a partir del día 12 de almacenamiento, fundamentado con la obtención de un d' con un valor superior a 1,00 en la evaluación sensorial.

- La utilización del biopreservante BLC-48® de la casa proveedora Chr. Hansen genera modificaciones sensoriales durante el almacenamiento del producto que fueron identificadas significativamente por parte de los consumidores en la evaluación sensorial, estas modificaciones no son atribuidas a signos de deterioro del producto sino que propiamente a cambios sensoriales que generó el biopreservante.
- La carne de conejo molida empacada al vacío sin aplicación de biopreservante puede almacenarse en refrigeración por 12 días y considerarse apropiada para el consumo, asumiendo ausencia de patógenos, según los resultados obtenidos en las pruebas fisicoquímicas y sensoriales.

7. Recomendaciones

- Se recomienda evaluar el efecto del biopreservante BLC-48® de la casa proveedora Chr. Hansen en su acción contra otros agentes patógenos como *Clostridium botulinum*, de modo que pueda definirse un mayor efecto en este producto sobre la calidad microbiológica de la carne molida de conejo.
- Se recomienda realizar un panel sensorial de agrado general en carne molida de conejo empacada al vacío almacenada en refrigeración con la utilización del biopreservante correspondiente a BLC-48® de la casa proveedora Chr. Hansen, con el fin de determinar si las modificaciones sensoriales que este genera serían deseadas o, más bien, consideraciones de rechazo por parte de los consumidores.
- Se recomienda realizar un panel sensorial de agrado general incluyendo carne molida de conejo empacada al vacío almacenada durante 12 días en refrigeración, con el fin de determinar si efectivamente esta sería su vida útil.
- Se recomienda la realización de estudios utilizando otros cultivos con características potenciales biopreservantes en carne molida fresca con el fin de determinar si es posible alargar la vida útil de este producto por la acción de microorganismos bioprotectores.
- Se recomienda la comercialización de carne molida mediante empaque al vacío, considerando que el producto es premium y puede contrarrestar los costos asociados.

8. Bibliografía

- ACEVEDO, M. 2004. Evaluación de los atributos principales de la calidad de la carne de res de origen local e importada, según se ofrece al consumidor. Puerto Rico. Recinto Universitario de Mayagüez.
- ALBERTI, P., RIPOLL, G., SAÑUDO, C., OLLETA, J. & NEGUERUELA, I. 2005. Medición del color: Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. España. MICYT-INIA 3: 216-225
- BADR, H. 2004. Use of irradiation to control foodborne pathogens and extend the reffrigerated market life of rabbit meat. *Meat Science* 67, 541-548.
- BAQUERO, C. & SERRANO, D. 2017. Utilización de equipos y utillaje en la elaboración y tratamiento de productos alimentarios. España. IC Editorial.
- BARREIRO, J. & SANDOVAL, A. 2006. Operaciones de Conservación de Alimentos por Bajas Temperaturas. Venezuela. Editorial EQUINOCCIO.
- BELITZ, H. & GROSCH, W. 1992. Química de los Alimentos. 4 ed. España. Acribia.
- BERRUGA, M., VERGARA, H. & LINARES, M. 2005. Control of microbial growth and rancidity in rabbit carcasses by modified atmosphere packaging. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85, 1987-1991.
- BISWAS, A., CHATLI, M. & SAHOO, J. 2012. Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage. *Food Chemistry* 133, 467–472.
- BIXQUERT, M. & GIL, R. 2018. Guía científica y gastronómica de la carne de conejo. España. INTERCUN.
- BIXQUERT, M. & GIL, R. 2005. Propiedades nutricionales y digestibilidad de la carne de conejo. Carne de conejo: Equilibrio y Salud. *Revista Científica de Nutrición* 1, 7-11.
- BLANDINO, L. 2005. La Industria de la Carne Bovina en Centroamérica: Situación y Perspectivas. Costa Rica. SIDE.

- BRAÑA, D., RAMÍREZ, E., RUBIO, M., SÁNCHEZ, A., TORRESCANO, G., ARENAS, M., PARTIDA, J., PONCE, E. & RÍOS, F. 2011. Manual de análisis de calidad en muestras de carne. México. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal.
- CANDOGAN, K. & KOLSARICI, N. 2003. Storage stability of low-fat beef frankfurters formulated with carrageenan or carrageenan with pectin. *Meat Science* 64 (2), 207-214.
- CASABURI, A., PIOMBINO, P., NYCHAS, G. & VILLANI, F. 2015. Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage. *Food Microbiology* 45, 83-102.
- CHRHANSEN. 2009. Enhancing the safety and quality of meat products using bioprotective cultures. Recuperado de <https://www.cmc-cvc.com/sites/default/files/files/EnhancingSafety.pdf>. Acceso: 13/06/2019.
- CIFUNI, G., CONTO, M. & FAILLA, S. 2016. Potential use of visible reflectance spectra to predict lipid oxidation of rabbit meat. *Journal of Food Engineering* 169, 85-90.
- COETZEE, G. & HOFFMAN, C. 2001. Effect of dietary vitamin E on the performance of broilers and quality of broiler meat during refrigerated and frozen storage. *South African Journal of Animal Sci* 31 (3), 158-172.
- CORDERO, R. 2012. Especies menores: Conejos. Costa Rica. PROMADE.
- COSSU, M. & CAPRA, G. 2014. Valor nutritivo de la carne de conejo y su potencial como alimento funcional. Uruguay. INIA.
- CURY, K., MARTÍNEZ, A., AGUAS, Y. & OLVERO, R. 2011. Caracterización de carne de conejo y producción de salchicha. *Rev Colombiana cienc. Anim* 3 (2), 270 - 272.
- DURAZO, E. 2006. Aprovechamiento de los productos pesqueros. México. Universidad Autónoma de Baja California.
- DUSKOVÁ, M., KAMENÍK, J., LACANIN, I., SEDO, O. & ZDRÁHAL, Z. 2016. Lactic acid bacteria in cooked hams e Sources of contamination and chances of survival in the product. *Food Control* 61, 1-5.
- ENNIS, D. 2013. Tables for product testing methods. Institute for Perception.

- FERNÁNDEZ, M. & O'NEILL, E. 1993. Lipid oxidation in rabbit meat under different storage conditions. *Journal of Food Science* 58, 1262-1264.
- FRANZ, C. & VON HOLY, A. 1996. Thermotolerance of meat spoilage lactic acid bacteria and their inactivation in vacuum-packaged Vienna sausages. *International Journal of Food Microbiology* 29 (1), 59-73.
- FRUET, A., NORNBORG, J., CALKINS, C. & DE MELLO, A. 2019. Effect of different antioxidants on quality of beef patties from steers fed low-moisture distillers grains. *Meat Science* (154), 119-125.
- FURUKAWA, V., SOBRAL, P., HABITANTE, A. & GOMES, J. 2004. Análise térmica da carne de coelhos. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos. Campinas* 24 (2), 265-269.
- GÁLVEZ, A., LÓPEZ, R. & ABRIOUEL, H. 2008. Applications of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology* 28, 125-152.
- GARCÍA, E., GAGO, L. & FERNÁNDEZ, J. 2006. Tecnologías de envasado en atmósfera protectora. España. CEIM.
- GÓMEZ, M. & GÓMEZ, N. 2013. Evaluación de la calidad de la carne de pollo (*Pectoralis major* y *Pectoralis minor*) que se expende en la ciudad de San Juan de Pasto (Nariño). Colombia. Universidad de Nariño.
- GONZALES, F. 2016. Desarrollo de un producto de fácil implementación para la empresa Rabbits de Costa Rica a partir de carne cunícola (*Oryctolagus cuniculus*) empacado al vacío y listo para cocinar, con sus costos variables estimados y su ficha técnica confeccionada. Trabajo final de graduación bajo la modalidad de tesis para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos. Costa Rica. UCR.
- GONZALES, R. & IBSEN, L. 2010. Capacidad de retención de agua y pH en diferentes tipos de carnes y en embutido. Perú. Tingo María.
- GONZÁLEZ, H., MESA, M., QUINTERO, C. & ALBEIRO, O. 2014. Estimación de la vida útil de almacenamiento de carne de res y de cerdo con diferente contenido graso. *Vitae* 21 (3), 201-210.

- GONZÁLEZ, P. & CARAVACA, F. 2007. Producción de conejos de aptitud cárnica. España. ISBN.
- GOSWAMI, T. & SINGH, M. 2003. Role of feed rate and temperature in attrition grinding of cumin. *Journal of Food Engineering* 59, 285-290.
- GUZMÁN, P. 2019. Determinación de la estabilidad microbiológica de la carne molida de conejo empacada al vacío, almacenada en refrigeración. Trabajo final de graduación bajo la modalidad de tesis para optar por el grado de Licenciatura en Microbiología. UCR.
- HERNÁNDEZ, J., AQUINO, J. & PALACIOS, A. 2015. Rendimiento de la canal, color de la carne y evolución del pH muscular de conejos. *Nacameh* 9 (2), 66-76.
- HERNÁNDEZ, P. 2008. La carne de conejo como alimento funcional. Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. España. Universidad Politécnica de Valencia.
- HUNTERLAB. 2018. Especificaciones de uso de espectrofotómetro ColorFlex EZ. Estados Unidos. Hunter Associates Laboratory, Inc.
- INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA. 1998. Manual: métodos de análisis físico- químicos de alimentos, agua y suelos. Chile. Subdepartamento Laboratorios del Ambiente.
- KIRK, R., SAWYER, R. & EGAN, H. 2006. Composición y Análisis de Alimentos de Pearson. 2 ed. México D.F. Editorial Patria.
- KIOKIAS, S., VARZAKAS, T., ARVANITTOYANNIS, I. & LABROPOULOS, A. 2009. *Advances in Food Biochemistry*. Estados Unidos. CRC Press.
- LARENAS, F. 2016. Evaluación de las variaciones de textura, color y pH en 3 cortes comerciales de carne bovina, envasados al vacío y almacenados en refrigeración a 4°C durante 90 días. Chile. Universidad de Concepción.
- LAWLESS, H. & HEYMANN, H. 2010. *Sensory evaluation of food: Principles and practices*. 2 ed. Estados Unidos. Springer.
- LEÓN, M. & RAMÍREZA, E. 2004. Higiene y manipulación de alimentos como factores de la prevención en la calidad agroalimentaria. México. Congreso Nacional de Calidad Agroalimentaria.

- LI, Y., TANG, X., SHEN, Z. & DONG, J. 2019. Prediction of total volatile basic nitrogen (TVB-N) content of chilled beef for freshness evaluation by using viscoelasticity based on airflow and laser technique. *Food Chemistry* 287, 126-132.
- LÓPEZ, H., BRAÑA, D. & HERNÁNDEZ, I. 2013. Estimación de la vida de anaquel de la carne. México. SAGARPA.
- LÓPEZ, J. 2014. Crianza, producción y comercialización de conejos. Perú. Editorial Macro.
- LÜCKE, F. & GEIDEL, W. 1935. Bestimmung des flüchtigen basischen stickstoffs in fischen als Masstabb für ihren frischezustand. *Z. Untersuch. Lebensm* 70: 441-458.
- MAG. 2011. Reglamento Sanitario y de Inspección Veterinaria de establecimientos de sacrificio y procesadores de aves. N° 37548-MAG. Costa Rica.
- MAHECHA, N. 2004. Manejo adecuado de los alimentos. 1 ed. Colombia. Editorial San Pablo.
- MATEAUDA, J. 2013. Estudio de la microflora bacteriana y cambios fisicoquímicos en carne bovina envasada al vacío y almacenada en frío. Tesis de Lic. en Tecnología de Alimentos. Uruguay. Universidad de la República.
- MEDINA, L. 2009. Evaluación de la Capacidad de Retención de Agua y Emulsificación en Carne Fresca de Tres Especies. España. UCAM.
- MEILGAARD, M., CIVILLE, G. & CARR, T. 1999. Sensorial evaluation techniques. 3 ed. Estados Unidos. CRC Press.
- MOKRZYCKI, W. & TATOL, M. 2012. Colour difference ΔE – A survey. Polonia. Warmia and Mazury.
- MONTERROSA, S. 2007. Determinación de bases volátiles en carnes frescas de pescado como índice de calidad y frescura en la degradación proteica. El Salvador. Universidad Dr. José Matías Delgado.
- MORA, N. & GARCÍA, A. 2007. Susceptibilidad de bacterias ácido lácticas (BAL) frente a diversos antibióticos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
- MOREIRAS, O., CARBAJAL, A., CABRERA, L. & CUADRADO, C. 2013. Tablas de composición de alimentos. España. Pirámide.

- MORENO, B. 2006. Higiene e inspección de carnes I. España. Díaz de Santos.
- NYCHAS, G. & DROSINOS, E. 2014. Meat and poultry: Spoilage of meat. Encyclopedia of Food Microbiology. 2 ed. Estados Unidos. Elsevier.
- OBÓN, J., CASTELAR, M., ALACID, M. & FERNÁNDEZ, J. 2009. Production of a red-purple food colorant of *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food. Journal of food engineering 90, 471-479.
- O'MAHONY, M. 1986. Sensory Evaluation of Food. Estados Unidos. Taylor & Francis.
- PARRA, R. 2010. Bacterias Ácido Lácticas: Papel Funcional en los Alimentos. Colombia. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.
- POTHAKOS, V., DEVLIEGHERE, F., VILLANI, F., BJÖRKROTH, J. & ERCOLINI, D. 2015. Lactic acid bacteria and their controversial role in fresh meat spoilage. Meat Science. 109: 66-75.
- RAMÍREZ, J. 2004. Características bioquímicas del músculo, calidad de la carne y de la grasa de conejos seleccionados por velocidad de crecimiento. España. IRTA.
- REID, D., KOTTE, K., KILMARTIN, P. & YOUNG, M. 2003. A new method for accelerated shelf life prediction for frozen foods. Journal of the Science of Food and Agriculture 83: 1018-1021.
- RENGIFO, L. & ORDÓÑEZ, E. 2012. Efecto de la Temperatura en la Capacidad de Retención de Agua y pH en Carne de Res, Cerdo, Pollo, Ovino y Pescado Paco. Perú. PLD.
- RODRÍGUEZ, J., GARCÍA, M., SANTOS, J. & OTERO, A. 2005. Development of the aerobic spoilage Xora of chilled rabbit meat. Meat Science 70, 389-394.
- ROESSLER, E., PANGBORN, R., SIDEL, J. & STONE, H. 1978. Expanded statistical tables for estimating significance in paired- preference, paired- difference, duo-trio and triangle test. Journal of Food Science 43 (3), 940-943, 947.
- ROGERS, L. 2017. Discrimination testing in sensory science. Reino Unido. Woodhead Publishing.
- ROUSSEAU, B. 2004. Sensory evaluation techniques. Handbook of food analysis. 2 ed. Estados Unidos. Marcel Dekker.

- RUSTAD, T. 2009. Lipid oxidation. In Handbook of seafood and seafood products analysis. Estados Unidos. CRC Press.
- SAMANIEGO, L. & SOSA, M. 2000. Lactobacillus spp.: Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora.
- SÁNCHEZ, G. 1997. Ciencia básica de la carne. Colombia. Fondo Nacional Universitario.
- SOLOMON, H., JOHNSON, E., BERNARD, D., ARNON, S. & FERREIRA, J. 2001. *Clostridium botulinum* and its toxins. Estados Unidos. In Pouch Downes.
- VIUDA, M., RUIZ, Y., FERNÁNDEZ, J. & PÉREZ, J. 2010. Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf-life of *mortadella*. Meat Science. 85(3), 568-576.
- ZAWIRSKA, R. 2011. Methods for sensory analysis. Food flavors: Chemical, sensory and technological properties. Estados Unidos. CRC Press.

9. Anexos

9.1. Análisis Estadísticos

Figura 10. Análisis estadístico del comportamiento del número de TBA en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	
Model	7	53.420917	7.63156	11.7590	
Error	64	41.535731	0.64900	Prob > F	
C. Total	71	94.956648		<.0001*	

Parameter Estimates					
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t	
Intercept	0.2727877	0.16566	1.65	0.1045	
Empaque[Bandeja]	0.7498361	0.096739	7.75	<.0001*	
Preservante[Biopreservante]	-0.051521	0.096739	-0.53	0.5962	
Dia	0.0897611	0.018562	4.84	<.0001*	
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]	-0.061899	0.096739	-0.64	0.5245	
Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	-0.009358	0.018562	-0.50	0.6159	
Empaque[Bandeja]*(Dia-7.5)	0.078246	0.018562	4.22	<.0001*	
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	-0.010896	0.018562	-0.59	0.5593	

Effect Tests					
Source	Nparm	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Empaque	1	1	38.991869	60.0803	<.0001*
Preservante	1	1	0.184078	0.2836	0.5962
Dia	1	1	15.176464	23.3845	<.0001*
Empaque*Preservante	1	1	0.265712	0.4094	0.5245
Preservante*Dia	1	1	0.164937	0.2541	0.6159
Empaque*Dia	1	1	11.532375	17.7696	<.0001*
Empaque*Preservante*Dia	1	1	0.223609	0.3445	0.5593

Extraído de: Software JMP.

Figura 11. Análisis estadístico del comportamiento del NVT en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	7	12172.333	1738.90	116.1043
Error	64	958.534	14.98	Prob > F
C. Total	71	13130.868		<.0001*

Lack Of Fit				
Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	0.7949495	0.795812	1.00	0.3216
Empaque[Bandeja]	6.37668	0.464722	13.72	<.0001*
Preservante[Biopreservante]	-0.377437	0.464722	-0.81	0.4197
Dia	2.3848215	0.08917	26.74	<.0001*
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]	-0.176513	0.464722	-0.38	0.7053
Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	-0.081309	0.08917	-0.91	0.3653
Empaque[Bandeja]*(Dia-7.5)	0.9778558	0.08917	10.97	<.0001*
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	-0.024778	0.08917	-0.28	0.7820

Effect Tests					
Source	Nparm	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Empaque	1	1	2819.880	188.2795	<.0001*
Preservante	1	1	9.879	0.6596	0.4197
Dia	1	1	10712.873	715.2836	<.0001*
Empaque*Preservante	1	1	2.161	0.1443	0.7053
Preservante*Dia	1	1	12.453	0.8315	0.3653
Empaque*Dia	1	1	1801.125	120.2586	<.0001*
Empaque*Preservante*Dia	1	1	1.156	0.0772	0.7820

Extraído de: Software JMP.

Figura 12. Análisis estadístico del comportamiento del pH en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	7	13.265466	1.89507	46.9771
Error	64	2.581774	0.04034	Prob > F
C. Total	71	15.847240		<.0001*

Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	5.9087675	0.041301	143.06	<.0001*
Empaque[Bandeja]	0.3077309	0.024118	12.76	<.0001*
Preservante[Biopreservante]	-0.045289	0.024118	-1.88	0.0650
Día	0.0206475	0.004628	4.46	<.0001*
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]	-0.004434	0.024118	-0.18	0.8547
Preservante[Biopreservante]*(Día-7.5)	-0.005128	0.004628	-1.11	0.2720
Empaque[Bandeja]*(Día-7.5)	0.0613556	0.004628	13.26	<.0001*
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]*(Día-7.5)	-0.003391	0.004628	-0.73	0.4664

Effect Tests					
Source	Nparm	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Empaque	1	1	6.5672486	162.7966	<.0001*
Preservante	1	1	0.1422436	3.5261	0.0650
Día	1	1	0.8030283	19.9064	<.0001*
Empaque*Preservante	1	1	0.0013632	0.0338	0.8547
Preservante*Día	1	1	0.0495345	1.2279	0.2720
Empaque*Día	1	1	7.0909110	175.7777	<.0001*
Empaque*Preservante*Día	1	1	0.0216615	0.5370	0.4664

Extraído de: Software JMP.

Figura 13. Análisis estadístico del comportamiento de la pérdida de peso por exudado en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

Analysis of Variance					
Lack Of Fit					
Parameter Estimates					
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t	
Intercept	2.1965502	0.476338	4.61	<.0001*	
Empaque[Bandeja]	-0.365301	0.278162	-1.31	0.1938	
Preservante[Biopreservante]	0.2327206	0.278162	0.84	0.4059	
Dia	0.3285663	0.053373	6.16	<.0001*	
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]	-0.536228	0.278162	-1.93	0.0583	
Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	-0.009451	0.053373	-0.18	0.8600	
Empaque[Bandeja]*(Dia-7.5)	0.0589164	0.053373	1.10	0.2738	
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	-0.04675	0.053373	-0.88	0.3844	
Effect Tests					
Source	Nparm	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Empaque	1	1	9.25428	1.7247	0.1938
Preservante	1	1	3.75587	0.7000	0.4059
Dia	1	1	203.34812	37.8967	<.0001*
Empaque*Preservante	1	1	19.94067	3.7162	0.0583
Preservante*Dia	1	1	0.16823	0.0314	0.8600
Empaque*Dia	1	1	6.53833	1.2185	0.2738
Empaque*Preservante*Dia	1	1	4.11672	0.7672	0.3844

Extraído de: Software JMP.

Figura 14. Análisis estadístico del comportamiento del parámetro L^* , dentro de la evaluación de color, en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Model	7	27.94365	3.99195	1.6762	
Error	64	152.41763	2.38153		
C. Total	71	180.36128			0.1308

Lack Of Fit					
No significant lack of fit.					

Parameter Estimates					
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t	
Intercept	60.018062	0.317339	189.13	<.0001*	
Empaque[Bandeja]	-0.010989	0.185313	-0.06	0.9529	
Preservante[Biopreservante]	0.1332877	0.185313	0.72	0.4746	
Dia	-0.045479	0.035557	-1.28	0.2055	
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]	-0.27951	0.185313	-1.51	0.1364	
Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	0.0022031	0.035557	0.06	0.9508	
Empaque[Bandeja]*(Dia-7.5)	-0.103357	0.035557	-2.91	0.0050*	
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	0.0021305	0.035557	0.06	0.9524	

Effect Tests					
Source	Nparm	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Empaque	1	1	0.008374	0.0035	0.9529
Preservante	1	1	1.232031	0.5173	0.4746
Dia	1	1	3.896001	1.6359	0.2055
Empaque*Preservante	1	1	5.417949	2.2750	0.1364
Preservante*Dia	1	1	0.009143	0.0038	0.9508
Empaque*Dia	1	1	20.121983	8.4492	0.0050*
Empaque*Preservante*Dia	1	1	0.008550	0.0036	0.9524

Extraído de: Software JMP.

Figura 15. Análisis estadístico del comportamiento del parámetro a^* , dentro de la evaluación de color, en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	7	70.26664	10.0381	7.8520
Error	64	81.81800	1.2784	Prob > F
C. Total	71	152.08464		<.0001*

Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	6.0932593	0.232504	26.21	<.0001*
Empaque[Bandeja]	-0.739853	0.135773	-5.45	<.0001*
Preservante[Biopreservante]	-0.000307	0.135773	-0.00	0.9982
Dia	0.0341746	0.026052	1.31	0.1943
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]	0.0497016	0.135773	0.37	0.7155
Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	-0.0059	0.026052	-0.23	0.8215
Empaque[Bandeja]*(Dia-7.5)	-0.101959	0.026052	-3.91	0.0002*
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	0.0050172	0.026052	0.19	0.8479

Effect Tests					
Source	Nparm	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Empaque	1	1	37.960548	29.6937	<.0001*
Preservante	1	1	6.53191e-6	0.0000	0.9982
Dia	1	1	2.199891	1.7208	0.1943
Empaque*Preservante	1	1	0.171310	0.1340	0.7155
Preservante*Dia	1	1	0.065576	0.0513	0.8215
Empaque*Dia	1	1	19.581485	15.3171	0.0002*
Empaque*Preservante*Dia	1	1	0.047415	0.0371	0.8479

Extraído de: Software JMP.

Figura 16. Análisis estadístico del comportamiento del parámetro b^* , dentro de la evaluación de color, en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	7	114.95881	16.4227	18.6896
Error	64	56.23712	0.8787	Prob > F
C. Total	71	171.19594		<.0001*

Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	15.404968	0.19276	79.92	<.0001*
Empaque[Bandeja]	0.9608417	0.112564	8.54	<.0001*
Preservante[Biopreservante]	-0.032119	0.112564	-0.29	0.7763
Dia	-0.009529	0.021599	-0.44	0.6606
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]	0.1054437	0.112564	0.94	0.3524
Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	0.0005368	0.021599	0.02	0.9802
Empaque[Bandeja]*(Dia-7.5)	0.1489604	0.021599	6.90	<.0001*
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	-0.007303	0.021599	-0.34	0.7364

Effect Tests					
Source	Nparm	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Empaque	1	1	64.024336	72.8621	<.0001*
Preservante	1	1	0.071540	0.0814	0.7763
Dia	1	1	0.171050	0.1947	0.6606
Empaque*Preservante	1	1	0.771051	0.8775	0.3524
Preservante*Dia	1	1	0.000543	0.0006	0.9802
Empaque*Dia	1	1	41.796130	47.5656	<.0001*
Empaque*Preservante*Dia	1	1	0.100467	0.1143	0.7364

Extraído de: Software JMP.

Figura 17. Análisis estadístico del comportamiento del parámetro ΔE , dentro de la evaluación de color, en carne molida de conejo con y sin biopreservante, según tipo de empaque, durante su almacenamiento en refrigeración (3-4 °C).

Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	7	334.3022	47.7575	3.3951
Error	64	900.2690	14.0667	Prob > F
C. Total	71	1234.5712		0.0038*

Lack Of Fit				
Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	1.8719712	0.771245	2.43	0.0180*
Empaque[Bandeja]	0.1484894	0.450376	0.33	0.7427
Preservante[Biopreservante]	0.402476	0.450376	0.89	0.3749
Dia	0.3497518	0.086417	4.05	0.0001*
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]	0.5730528	0.450376	1.27	0.2078
Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	-0.00571	0.086417	-0.07	0.9475
Empaque[Bandeja]*(Dia-7.5)	-0.064308	0.086417	-0.74	0.4595
Empaque[Bandeja]*Preservante[Biopreservante]*(Dia-7.5)	0.1080825	0.086417	1.25	0.2156

Effect Tests					
Source	Nparm	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Empaque	1	1	1.52909	0.1087	0.7427
Preservante	1	1	11.23366	0.7986	0.3749
Dia	1	1	230.41677	16.3803	0.0001*
Empaque*Preservante	1	1	22.77355	1.6190	0.2078
Preservante*Dia	1	1	0.06141	0.0044	0.9475
Empaque*Dia	1	1	7.78976	0.5538	0.4595
Empaque*Preservante*Dia	1	1	22.00417	1.5643	0.2156

Extraído de: Software JMP.