

# **DESARROLLO DE UN NUEVO MÉTODO DE SALADO-AHUMADO DE SALMÓN Y MONITORIZACIÓN DEL PROCESO POR ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA**



**MASTER EN GESTIÓN Y SEGURIDAD ALIMENTARIA**

Arantxa Rizo Párraga

Ana Fuentes López

Isabel Fernández Segovia

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural

# DESARROLLO DE UN NUEVO MÉTODO DE SALADO-AHUMADO DE SALMÓN Y MONITORIZACIÓN DEL PROCESO POR ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA

Rizo Párraga, A.; Fuentes López, A.; Fernández Segovia, I.

## RESUMEN

En este trabajo se plantearon dos objetivos. El primer objetivo fue optimizar un nuevo método de salado-ahumado empleando el envasado a vacío, para la obtención de salmón ahumado. El segundo objetivo fue evaluar la aplicación de la espectroscopía de impedancia (EI) en la monitorización on-line del proceso de salado-ahumado del salmón. En la primera fase del trabajo se estudiaron diferentes condiciones de procesado: 4 concentraciones de sal dosificada, 3 tiempos de salado y salado envasando a vacío y en aire. Durante el estudio se llevaron a cabo análisis fisico-químicos y medidas de EI empleando tres sensores diferentes. De todas las condiciones ensayadas, se seleccionaron las que permitían obtener un producto similar al salmón ahumado comercial (salado con 16% de sazónador durante 24 h, envasando a vacío) y el sensor más adecuado para la correcta monitorización del proceso, para la siguiente fase del estudio. El nuevo método permitió obtener salmón ahumado similar al del mercado, reduciendo tiempos de procesado y residuos generados. Con el objetivo de evaluar la aplicación de EI en el seguimiento del proceso de salado-ahumado del salmón, se repitió el proceso con las condiciones seleccionadas en la fase anterior. Durante el proceso se llevaron a cabo análisis fisico-químicos y medidas de impedancia a intervalos periódicos. El sensor de impedancia seleccionado pudo diferenciar las muestras en función del tiempo de salado. A partir de las medidas de impedancia se obtuvieron modelos robustos para predecir el contenido en sal, humedad y  $a_w$  de las muestras de salmón durante el procesado. Los mejores ajustes correspondieron a la predicción de los valores de  $a_w$ , lo que resulta especialmente interesante debido a la relación que existe entre este parámetro y la vida útil de los productos ahumados. Los resultados mostraron el potencial de la espectroscopía de impedancia como método rápido de monitorización on-line del proceso de salado-ahumado de salmón.

## RESUM

En aquest treball es van plantejar dos objectius. El primer objectiu va ser optimitzar un nou mètode de salat-fumat emprant l'envasament a buit, per a l'obtenció de salmó fumat. El segon objectiu va ser avaluar l'aplicació de l'espectroscòpia d'impedància (EI) en la monitorització on-line del procés de salat-fumat del salmó. En la primera fase del treball es van estudiar diferents condicions de processat: 4 concentracions de sal dosificada, 3 temps de salat i salat envasant a buit i en aire. Durant l'estudi es van dur a terme anàlisis fisicoquímics i mesures d' EI emprant tres sensors diferents. De

totes les condicions assajades, es van seleccionar les que permetien obtenir un producte semblant al salmó fumat comercial (salat amb 16% de sazoador durant 24 h, envasant a buit) i el sensor més adequat per a la correcta monitorització del procés, per a la següent fase de l'estudi. El nou mètode va permetre obtenir salmó fumat semblant al del mercat, reduint temps de processat i residus generats. Amb l'objectiu d'avaluar l'aplicació d'EI en el seguiment del procés de salat-fumat del salmó, es va repetir el procés amb les condicions seleccionades en la fase anterior. Durant el procés es van dur a terme anàlisis fisicoquímics i mesures d'impedància a intervals periòdics. El sensor d'impedància seleccionat va poder diferenciar les mostres en funció del temps de salat. A partir de les mesures d'impedància es van obtenir models robustos per a predir el contingut en sal, humitat i  $a_w$  de les mostres de salmó durant el processat. Els millors ajustos van correspondre a la predicció dels valors d' $a_w$ , la qual cosa resulta especialment interessant a causa de la relació que existix entre este paràmetre i la vida útil dels productes fumats. Els resultats van mostrar el potencial de l'espectroscòpia d'impedància com a mètode ràpid de monitorització on-line del procés de salat-fumat de salmó.

## **ABSTRACT**

In this work two objectives were proposed. The first objective was to optimize a new method of salting-smoking using vacuum packaging, to obtain smoked salmon. The second objective was to evaluate the application of impedance spectroscopy (IE) in the on-line monitoring of salting-smoking process of salmon. In the first part of the study, different processing conditions were evaluated: 4 salt concentrations dosed, 3 times of salting and salting at vacuum or in air. During the study, physico-chemical analyses and measurements of IE with three different sensors were performed. For the next phase of the study, among all the tested conditions, those that yielded a product similar to the marketed smoked salmon were selected (salting with 16% salt for 24 h, vacuum packed), as well as the most appropriate sensor for monitoring the process. The new method yielded smoked salmon similar to the products available in the market, reducing processing times and wastes. In order to evaluate the application of IE in monitoring the process of salting-smoking of salmon, the process was repeated with the conditions selected in the previous phase. During the process, physico-chemical analysis and impedance measurements were carried out at regular intervals. The selected impedance sensor could discriminate the samples according to the time of salting. From the impedance measurements, robust models to predict the salt content, moisture and  $a_w$  of salmon samples during the process were obtained. The model with the best fit corresponded to the prediction of  $a_w$  values, which is especially interesting because of the relationship between this parameter and the shelf-life of smoked products. The results showed the potential of impedance spectroscopy as a rapid method of on-line monitoring of the process of salting-smoking of salmon.

**PALABRAS CLAVES:** salmón, espectroscopía de impedancia, salado, ahumado, análisis fisico-químico.

## 1. INTRODUCCIÓN

El ahumado es uno de los métodos más antiguos empleado para la conservación del pescado. El poder conservante del ahumado se debe a la combinación de diferentes factores, como son la incorporación de sal, la deshidratación parcial de los tejidos que se produce a lo largo de las diferentes etapas del proceso y la acción conservante de los componentes del humo. Estos cambios permiten retrasar los procesos microbiológicos y oxidativos causantes del deterioro, además de conferir al producto final unas características sensoriales muy apreciadas por el consumidor. Para obtener un producto de calidad y larga vida útil es fundamental, además de la adecuada selección de la materia prima, la optimización de las diferentes etapas que constituyen el proceso de ahumado, siendo la etapa de salado especialmente crítica. Actualmente, la mejora de los procesos de salado se centra principalmente en la reducción de los tiempos de procesado, aplicando técnicas alternativas como la inyección directa de salmuera (Thorarinsdottir et al., 2010), la combinación del salado y descongelación simultánea (Barat et al., 2004) o la utilización de la impregnación a vacío (Chiralt et al., 2001). Una alternativa a las técnicas empleadas hasta el momento podría ser la aplicación de un proceso de salado combinado con el envasado a vacío, donde se podría dosificar directamente la cantidad exacta de sal que debe absorber el pescado, para que alcance la concentración de sal típica para este tipo de productos y posteriormente se envasaría y salaría a vacío. Mediante esta nueva metodología se podría conseguir reducir el tiempo de salado, evitar contaminaciones y reducir los residuos generados por el uso excesivo de sal. Además, se podrían utilizar sales con aroma de humo incorporado, de forma que mediante una única etapa se conseguiría incorporar sal y aroma al producto, reduciendo sustancialmente el tiempo total de procesado.

Por otra parte, hay que destacar que los pescados ahumados comerciales presentan una gran variabilidad en distintos parámetros físico-químicos, como contenido en sal y  $a_w$ , que afectan directamente a la calidad sensorial y a la vida útil del producto (Fuentes et al., 2008a). Esto es debido a que en la industria, los procesos de ahumado están estandarizados para una determinada especie de pescado. Sin embargo, no se tiene en cuenta que el proceso se ve afectado por las características iniciales de la materia prima, tales como el contenido graso, la cantidad de agua presente en el músculo, las dimensiones de las piezas, el grado de frescura, etc. (Barat et al., 2006). Por todo ello, los productos ahumados que salen al mercado presentan características de calidad heterogéneas. En este sentido, sería muy interesante disponer de métodos de análisis on-line, rápidos y no destructivos, que permitieran determinar durante el procesado, en qué momento las muestras de pescado han alcanzado los valores óptimos de humedad, sal y/o  $a_w$ .

La utilización de sensores electrónicos basados en la espectroscopía de impedancia, podría cumplir con este objetivo, ya que se ha demostrado la relación que existe entre el contenido de cloruro sódico y las medidas de impedancia (Chanet et al., 1999; Guerrero et al., 2004).

La espectroscopía de impedancia consiste en aplicar un estímulo eléctrico a los electrodos, observar su respuesta y determinar sus propiedades, interacciones y dependencias con determinados factores (Masot, 2010). La respuesta eléctrica puede variar sustancialmente en función de las cargas presentes (iones libres), la microestructura y naturaleza del electrolito, así como con la textura, geometría y naturaleza de los electrodos. Las medidas de impedancia eléctrica proporcionan información acerca del tejido, siempre y cuando lo que se esté analizando presente un cambio en dimensión, en sus propiedades eléctricas o en su conductividad (Geddes y Baker, 1989; Wu et al., 2008).

En el presente trabajo se plantearon dos objetivos. El primer objetivo fue optimizar un nuevo método de salado-ahumado empleando el envasado a vacío, para la obtención de salmón ahumado. El segundo objetivo fue evaluar la aplicación de la espectroscopía de impedancia en la monitorización on-line del proceso de salado-ahumado del salmón.

## **2. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **2.1. Preparación de las muestras**

#### **2.1.1. MATERIA PRIMA**

La materia prima empleada para la realización del presente estudio fue salmón (*Salmo salar*) noruego procedente de la piscifactoría Hallvard Leroy, A.S., de calibre 1,4-1,8 kg. El pescado fue adquirido en un supermercado de Valencia y transportado en refrigeración hasta el laboratorio. El salmón era suministrado eviscerado, descabezado y dividido en dos filetes. Para el estudio completo se emplearon un total de 14 salmones (8 para la primera fase del estudio y 6 para la segunda fase).

Cada filete de salmón fresco fue desespinado y cortado en porciones de 4 cm que constituían las muestras. Así, de cada filete se obtenían de 6 a 7 muestras.

La sal empleada en el proceso fue un sazónador para preparar salmón ahumado (Salinera Española, S.A.) cuya composición incluía un 50% de sal marina refinada, azúcar blanquilla, bicarbonato sódico, aroma de humo y antiaglomerante (E-536).

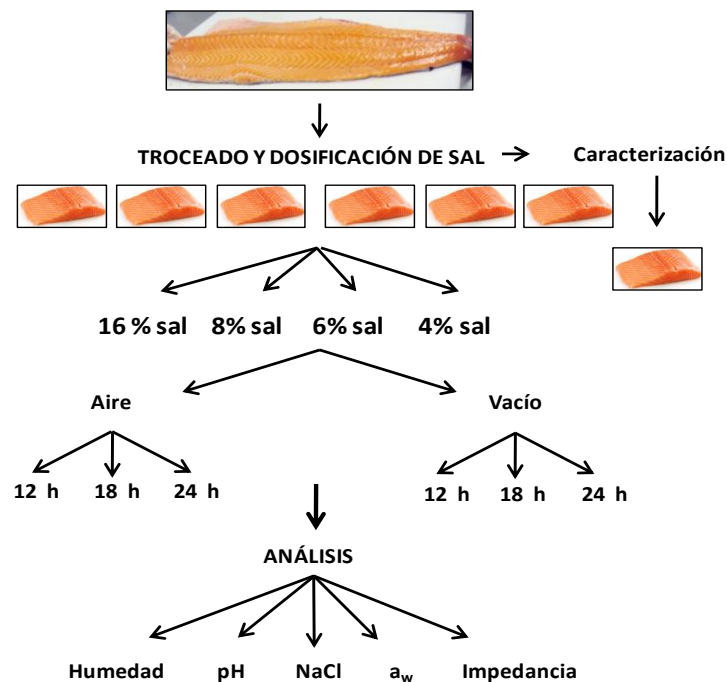
### **2.2 Diseño experimental**

#### **2.2.1. FASE I: OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE SALADO-AHUMADO Y SELECCIÓN DE ELECTRODOS DE ESPETROSCOPIA DE IMPEDANCIA**

La primera fase del estudio tuvo dos objetivos diferenciados. Por una parte se pretendía establecer las condiciones de salado (cantidad de sal a dosificar, tiempo y tipo de envasado), que permitieran obtener salmón ahumado con características similares a los productos comerciales ( $a_w=0,963-0,965$ ; 3,5-3,8% NaCl; 60-63% humedad) (Cardinal et al., 2004;

Fuentes et al., 2008a), generando un mínimo de residuos de salmuera. El segundo objetivo fue seleccionar el electrodo más adecuado que permitiera llevar a cabo una correcta monitorización del proceso de salado-ahumado.

En esta fase del estudio se emplearon para el procesado, un total de 48 porciones de salmón fresco, obtenidas tal y como se ha descrito anteriormente, que fueron divididas aleatoriamente en 4 lotes. Cada lote fue sometido al proceso de salado-ahumado utilizando una proporción de sal para ahumar distinta. Así, se ensayaron 4 concentraciones de sal a dosificar sobre el producto: 4, 6, 8 y 16 g sazonador/100 g salmón fresco (figura 1). Estas concentraciones fueron seleccionadas en base a estudios previos (Fuentes et al., 2011). La cantidad de sal calculada en cada caso era dosificada sobre el músculo de pescado. Posteriormente las muestras con la sal eran introducidas individualmente en bolsas de plástico. Cada lote fue dividido a su vez en 2 grupos, uno de los cuales se envasó en aire y el otro a vacío (figura 1). Asimismo, se establecieron 3 tiempos de salado (12, 18 y 24 horas). El proceso de salado-ahumado se llevó a cabo a 4 °C. Al finalizar el tiempo establecido, las muestras se introdujeron en una salmuera saturada en agitación constante durante 30 s, para eliminar los restos de sal que hubieran podido quedar adheridos a la superficie. Finalmente, las muestras se secaron con papel absorbente y pesaron. Se llevaron a cabo análisis de humedad, pH, contenido en NaCl y  $a_w$ , en el salmón fresco y en las muestras ahumadas, durante los distintos tiempos ensayados, Asimismo, se realizaron medidas con el equipo de espectroscopía de impedancia empleando 3 sensores diferentes (electrodo doble, punta de flecha y aguja), tal y como se describe posteriormente. Para cada una de las condiciones ensayadas se utilizaron dos muestras (n=2), realizando todos los análisis por triplicado sobre cada muestra, excepto el pH que se medía por quintuplicado.



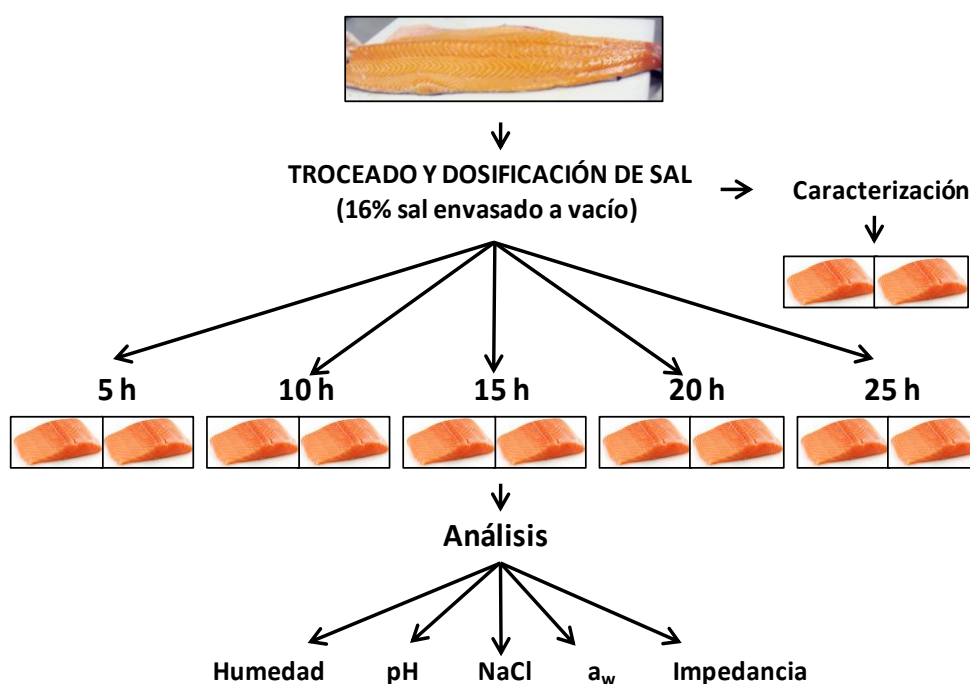
**Figura 1.** Diseño experimental de la Fase I.

## 2.2.2. FASE II: MONITORIZACIÓN DEL PROCESO DE SALADO-AHUMADO MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA

El objetivo de esta segunda fase del estudio fue evaluar la aplicación de la técnica de espectroscopía de impedancia en el seguimiento del proceso de salado-ahumado del salmón.

A partir de los resultados obtenidos en la fase anterior, se seleccionaron las condiciones óptimas de salado que permitían obtener un producto de salmón ahumado similar al comercial. Esta parte del estudio se realizó con 3 lotes de pescado compuestos por 12 muestras/lote, empleándose por tanto, un total de 36 muestras. Cada lote fue adquirido a intervalos de 1 semana.

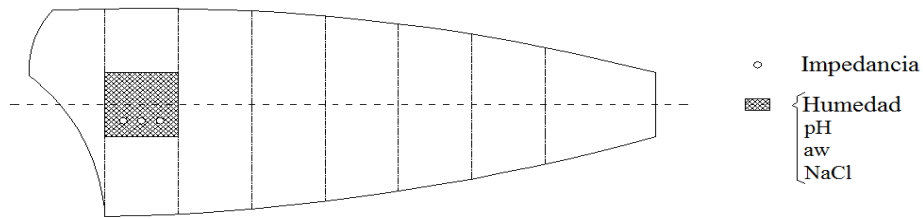
Las muestras fueron saladas dosificando 16 g sazónador/100 g de salmón fresco, envasando a vacío y almacenando las muestras durante 25 h a 4 °C (figura 2). Se muestreaba cada 5 h y, después de enjuagar las muestras en salmuera y secarlas, tal y como se ha descrito anteriormente, se llevaban a cabo determinaciones fisico-químicas (contenido en humedad, pH, contenido en NaCl y  $a_w$ ) y medidas de espectroscopía de impedancia por triplicado con el electrodo seleccionado en la fase I (electrodo de aguja). Para cada tiempo de salado, incluyendo el tiempo 0 que correspondía a salmón fresco, se emplearon 2 muestras ( $n=2$  en cada lote).



**Figura 2.** Diseño experimental de la Fase II.

### 2.3. Determinaciones analíticas

Los análisis fisico-químicos y las medidas de espectroscopía de impedancia se realizaron en la parte central de cada filete, tal y como se muestra en la figura 3.



**Figura 3.** Área del filete muestreada para los análisis físico-químicos y las medidas de espectroscopía de impedancia.

### 2.3.1 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

El pH se midió directamente sobre las muestras empleando un pH-metro con electrodo de punción (Crison Basic 20+, Crison Instruments, Barcelona), tomando lecturas en 5 puntos diferentes de cada muestra. La determinación del contenido de humedad se realizó siguiendo el procedimiento de la AOAC 950.46 (1997). Para la determinación de la  $a_w$  se empleó un higrómetro de punto de rocío (GBX scientific FA-st/lab, Cédex, Francia). El contenido en cloruro sódico se determinó según el procedimiento descrito por Fuentes et al. (2010a), empleando un analizador automático de cloruros Sherwood mod. 926 (Sherwood Scientific Ltd., Cambridge, UK). Para estimar las variaciones de masa total, agua y cloruro sódico durante el proceso de salado se emplearon las ecuaciones (1), (2) y (3):

$$\text{Variación de masa total:} \quad \Delta M_t^0 = \left( \frac{M_t^0 - M_0^0}{M_0^0} \right) \quad (1)$$

$$\text{Variación de masa de agua:} \quad \Delta M_t^W = \left( \frac{M_t^0 \cdot x_t^W - M_0^0 \cdot x_0^W}{M_0^0} \right) \quad (2)$$

$$\text{Variación de masa de cloruro sódico:} \quad \Delta M_t^{\text{NaCl}} = \left( \frac{M_t^0 \cdot x_t^{\text{NaCl}} - M_0^0 \cdot x_0^{\text{NaCl}}}{M_0^0} \right) \quad (3)$$

$M_t^0$  = Masa de la muestra a tiempo t (g)

$M_0^0$  = Masa inicial de la muestra (g)

$x_t^W$  = Fracción másica de agua a tiempo t (g H<sub>2</sub>O/g pescado)

$x_0^W$  = Fracción másica de agua inicial (g H<sub>2</sub>O/g pescado)

$x_t^{\text{NaCl}}$  = Fracción másica de cloruro sódico a tiempo t (g NaCl/g pescado)

$x_0^{\text{NaCl}}$  = Fracción másica de cloruro sódico inicial (g NaCl/g pescado)

Asimismo, se calculó la concentración de NaCl en fase líquida con la ecuación (4):

$$Z^{\text{NaCl}} = \left( \frac{x^{\text{NaCl}}}{x^W + x^{\text{NaCl}}} \right) \quad (4)$$

$x^{\text{NaCl}}$  = Fracción másica de cloruro sódico

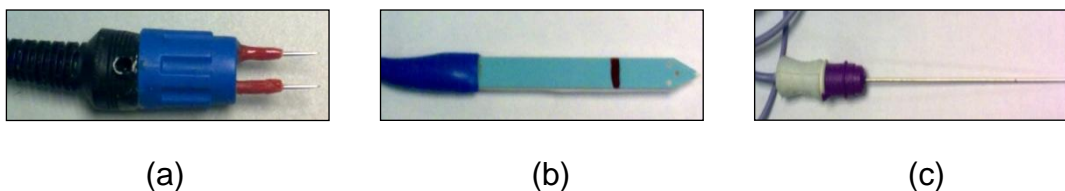
$x^W$  = Fracción másica de agua



### 2.3.2 MEDIDAS CON ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA

El equipo de espectroscopía de impedancia empleado en el presente estudio fue diseñado en el Instituto de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM) de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV). El equipo de impedancia realiza un barrido de frecuencias desde 1 Hz hasta 1 MHz, registrando los valores de impedancia a 50 frecuencias diferentes dentro del rango establecido. A partir de las señales de tensión y corriente en el electrodo, el software del equipo calcula el valor del módulo y fase de la impedancia para cada una de las frecuencias seleccionadas.

Dado que la respuesta eléctrica puede variar sustancialmente en función de la textura, geometría y naturaleza de los electrodos, en la primera fase del estudio se emplearon tres tipos de sensores diferentes. Uno de los sensores consistió en un electrodo doble (ED) compuesto por dos agujas de acero inoxidable de 1,5 cm de longitud y 1 mm de diámetro, colocadas a una distancia de 1 cm sobre un bastidor no conductor (figura 4.a), el cual permitía mantener fija la separación de ambos electrodos durante la realización de las medidas. En el diseño del otro sensor empleado, denominado “punta de flecha” (PF) se aplicó la tecnología híbrida de circuitos de capa gruesa. Mediante esta tecnología se adhiere a una pantalla una tela sobre la cual se ha fijado un film fotosensible. Mediante diferentes métodos de revelado fotográfico y empleando un fotolito del diseño del electrodo, se fija el negativo a la pantalla delimitando las zonas por donde pasará la pasta a través de la tela. Las dimensiones de este electrodo son de 0,5 cm de diámetro por 0,5 de longitud. El diseño en punta de este electrodo facilita la penetración del mismo a través de la muestra (figura 4.b). Por último, el electrodo de aguja es un electrodo comercial utilizado en las técnicas electromiográficas. La aguja utilizada, TECA Disposable Concentric Needle Electrodes X53159\*, es una aguja concéntrica, de pequeñas dimensiones (diámetro exterior de 0,64 mm, una longitud de 75 mm y un área efectiva de 0,07 mm<sup>2</sup>) respecto a las de la muestra, con objeto de llevar a cabo medidas puntuales y no destructivas (figura 4.c). La parte externa de la aguja, de acero inoxidable, actúa como electrodo exterior o de referencia, y la parte interna, del mismo material, actúa como electrodo interno o de trabajo. Entre los dos electrodos hay un material dieléctrico, una resina epoxi. En los 3 casos, las lecturas de impedancia se tomaron siempre introduciendo el sensor en el filete a 1,5 cm, en sentido perpendicular a las fibras musculares del pescado, en la zona indicada en la figura 3. Todas las medidas se realizaron a temperatura ambiente.



**Figura 4:** Electrodos usados en espectroscopía de impedancia. Electrodo doble (a), electrodo punta de flecha (b), electrodo de aguja (c).

## **2.4. Análisis estadístico.**

Con los datos obtenidos en los análisis físico-químicos de la fase I, se llevaron a cabo ANOVAs multifactor para evaluar el efecto de la cantidad de sal dosificada, el tipo de envasado y el tiempo de salado, así como de sus interacciones. En la segunda fase del trabajo se llevó a cabo un ANOVA simple para comprobar la existencia de diferencias significativas en los parámetros físico-químicos con el tiempo de salado. Para realizar estos análisis se empleó el programa Statgraphics Centurión XVI (Manugistics Inc., Rockville, MD, USA).

Para evaluar la viabilidad del uso de la técnica de espectroscopía de impedancia con cada uno de los tres electrodos empleados en la fase I, en la discriminación de diferentes intensidades de sal en el músculo de salmón, se llevaron a cabo análisis de componentes principales (PCA). Los PCAs se realizaron empleando los datos de módulo y fase registrados con el equipo de impedancia en el rango de frecuencias establecido, para cada uno de los sensores.

De igual forma, a través de un PCA, se determinó la viabilidad de esta técnica para monitorizar el proceso de salado-ahumado en la segunda fase. Además, se realizaron análisis de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS) con el objeto de crear modelos de predicción de los parámetros físico-químicos evaluados, empleando las medidas de espectroscopía de impedancia. El PLS maximiza la correlación entre variables independientes y variables dependientes (Martens & Martens, 2001). Los modelos de predicción PLS fueron creados usando un set de datos experimentales (set de calibración). El modelo fue validado con un nuevo set de datos experimentales (set de validación). Todos los análisis multivariantes se llevaron a cabo utilizando el programa MATLAB® PLS Tool-box (Eigenvector Research, Inc.).

## **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **3.1. Fase I. Optimización del proceso de salado-ahumado y selección de electrodos de espectroscopía de impedancia.**

#### **3.1.1. DETERMINACIONES FISICO-QUÍMICAS**

En la tabla 1 se muestran los valores de humedad, pH,  $a_w$  y contenido de cloruro sódico, de la materia prima y de las distintas muestras de salmón ahumado. Los valores obtenidos para la materia prima son similares a los dados por otros autores en salmón fresco (Fuentes et al., 2010b; Gallart-Jornet et al., 2007).

El proceso de salado-ahumado, independientemente de las condiciones empleadas, provocó una reducción del contenido de agua, un aumento de la concentración de sal y una reducción importante de la  $a_w$  respecto al pescado fresco. Este descenso de los valores de  $a_w$  es lo que permite prolongar la vida útil del producto ahumado. Los cambios mencionados se deben a la deshidratación e incorporación de sales al músculo. Se puede

observar que las muestras con niveles de sal más elevados presentaron un ligero descenso en los valores de pH, debido al aumento en la fuerza iónica de la solución interna de las células en el músculo de pescado, tal y como describió Leroi y Joffraud (2000).

**Tabla 1.** Parámetros fisicoquímicos de la materia prima (S=0, t=0) y de las muestras de salmón ahumado elaboradas combinando diferentes dosificaciones de sal (S), tipo de envasado (E) y tiempo de procesado (t). Valores promedio  $\pm$  SD (n=2).

S (g sal/100g)	E	t (h)	Humedad (%)	pH	$a_w$	NaCl (%)	
0		0	70,39 $\pm$ 1,47	6,13 $\pm$ 0,02	0,992 $\pm$ 0,002	0,00	
		Aire	12	67,34 $\pm$ 0,13	6,10 $\pm$ 0,01	0,980 $\pm$ 0,000	1,84 $\pm$ 0,09
			18	65,91 $\pm$ 0,18	6,08 $\pm$ 0,08	0,978 $\pm$ 0,000	1,71 $\pm$ 0,07
4	Aire	24	67,81 $\pm$ 0,24	6,07 $\pm$ 0,06	0,972 $\pm$ 0,002	2,03 $\pm$ 0,04	
		Vacío	12	67,03 $\pm$ 0,12	6,09 $\pm$ 0,04	0,979 $\pm$ 0,001	1,78 $\pm$ 0,05
			18	67,13 $\pm$ 0,29	6,09 $\pm$ 0,02	0,980 $\pm$ 0,001	1,79 $\pm$ 0,01
	24		68,03 $\pm$ 0,01	6,09 $\pm$ 0,03	0,980 $\pm$ 0,000	1,68 $\pm$ 0,01	
	6	Aire	12	66,11 $\pm$ 0,21	6,12 $\pm$ 0,02	0,978 $\pm$ 0,001	1,77 $\pm$ 0,06
			18	65,13 $\pm$ 0,30	6,10 $\pm$ 0,03	0,977 $\pm$ 0,000	2,04 $\pm$ 0,01
24			65,70 $\pm$ 0,17	5,99 $\pm$ 0,02	0,978 $\pm$ 0,001	2,54 $\pm$ 0,08	
Vacío		12	65,52 $\pm$ 0,02	6,08 $\pm$ 0,04	0,978 $\pm$ 0,001	2,02 $\pm$ 0,02	
		18	66,95 $\pm$ 0,18	6,15 $\pm$ 0,05	0,982 $\pm$ 0,001	1,67 $\pm$ 0,00	
		24	67,23 $\pm$ 0,80	6,06 $\pm$ 0,05	0,976 $\pm$ 0,000	2,01 $\pm$ 0,02	
8	Aire	12	65,65 $\pm$ 0,20	6,14 $\pm$ 0,04	0,977 $\pm$ 0,000	2,16 $\pm$ 0,10	
		18	65,52 $\pm$ 1,22	6,08 $\pm$ 0,02	0,976 $\pm$ 0,000	2,14 $\pm$ 0,05	
		24	64,69 $\pm$ 0,35	6,10 $\pm$ 0,04	0,971 $\pm$ 0,000	2,58 $\pm$ 0,03	
	Vacío	12	65,15 $\pm$ 0,28	6,13 $\pm$ 0,03	0,978 $\pm$ 0,001	1,98 $\pm$ 0,09	
		18	65,57 $\pm$ 0,17	6,16 $\pm$ 0,05	0,977 $\pm$ 0,000	2,13 $\pm$ 0,16	
		24	64,20 $\pm$ 0,03	6,05 $\pm$ 0,02	0,965 $\pm$ 0,001	3,01 $\pm$ 0,00	
16	Aire	12	62,68 $\pm$ 0,28	6,15 $\pm$ 0,06	0,976 $\pm$ 0,002	1,79 $\pm$ 0,05	
		18	62,34 $\pm$ 0,88	6,17 $\pm$ 0,02	0,978 $\pm$ 0,000	1,90 $\pm$ 0,14	
		24	59,91 $\pm$ 0,06	5,99 $\pm$ 0,05	0,968 $\pm$ 0,001	3,40 $\pm$ 0,10	
	Vacío	12	60,53 $\pm$ 0,67	6,12 $\pm$ 0,06	0,969 $\pm$ 0,002	2,35 $\pm$ 0,22	
		18	60,99 $\pm$ 0,26	6,01 $\pm$ 0,03	0,967 $\pm$ 0,000	3,12 $\pm$ 0,25	
		24	62,45 $\pm$ 0,39	5,96 $\pm$ 0,01	0,963 $\pm$ 0,002	3,62 $\pm$ 0,02	

En las muestras con mayor dosificación de sal (8 y 16%) se observó un aumento en el contenido en NaCl, con la consecuente reducción de los valores de  $a_w$ , a medida que aumentaba el tiempo de procesado, tanto en el envasado en aire como a vacío. Sin embargo, para las dosificaciones de 4 y 6% de sazónador, estos cambios fueron de menor magnitud en las muestras envasadas en aire y prácticamente nulos en el salmón que había sido envasado a vacío (tabla 1). Esto es debido a que en estos dos casos, a las 12 horas prácticamente se había absorbido toda la sal dosificada, por lo que los cambios durante el resto del tiempo de procesado fueron mínimos.

En relación al tipo de envasado, el vacío provocó una aceleración en el proceso de captación de sal y deshidratación del salmón, pero este efecto solo se observó para la dosificación más elevada de sal (16%), siendo mínimas las diferencias entre los dos envasados para el resto de dosificaciones ensayadas.

De los 4 niveles de sal empleados, solo las muestras saladas con 16 g sazonzador/100 g de salmón fresco durante 24 horas en aire y a vacío, alcanzaron niveles de  $a_w$ , contenido en sal y humedad similares a los prefijados ( $a_w=0,963-0,965$ ; 3,5-3,8% NaCl; 60-63% humedad). A partir de estos resultados, se establecieron las condiciones para la fase II del estudio: dosificación de un 16% de sazonzador durante 24 h y envasado a vacío. Aunque a las 24 h de procesado los parámetros físico-químicos eran similares en ambos tipos de envasado, se seleccionó el envasado a vacío por la ventaja que supone la reducción de oxígeno, ya que se ralentizaría el deterioro del producto, principalmente debido al crecimiento microbiano y a la oxidación lipídica.

Los resultados del ANOVA multifactor realizado para cada uno de los parámetros físico-químicos evaluados, tomando como factores la dosificación de sal, el envasado y el tiempo de procesado, se muestran en la tabla 2. Se puede observar que la dosis de sal afectó de forma importante a la humedad,  $a_w$  y NaCl. Hay que destacar que el efecto del envasado a nivel global, no fue significativo en ningún parámetro; sin embargo, la interacción entre la cantidad de sal dosificada y el envasado sí que fue significativa, lo que demuestra que el envasado tuvo un efecto diferente sobre los parámetros evaluados dependiendo del nivel de sal empleado, tal y como se ha comentado anteriormente. De igual forma la evolución de los parámetros en el tiempo fue diferente en función de la cantidad de sal dosificada.

**Tabla 2.** Valores de F-ratio y nivel de significación, obtenidos en el ANOVA multifactor para las variables humedad, pH,  $a_w$ , y %NaCl, en función de los factores: nivel de sal (S), tiempo de salado (t) y tipo de envasado (E).

	S	t	E	S x t	S x E	t x E
<b>Humedad</b>	188,10 <sup>***</sup>	1,05 <sup>ns</sup>	3,15 <sup>ns</sup>	6,13 <sup>**</sup>	4,02 <sup>**</sup>	12,96 <sup>***</sup>
<b>pH</b>	2,98 <sup>*</sup>	30,16 <sup>***</sup>	1,08 <sup>ns</sup>	5,24 <sup>***</sup>	7,16 <sup>***</sup>	0,74 <sup>ns</sup>
<b><math>a_w</math></b>	38,90 <sup>***</sup>	31,27 <sup>***</sup>	3,77 <sup>ns</sup>	3,64 <sup>**</sup>	13,71 <sup>***</sup>	0,19 <sup>ns</sup>
<b>% NaCl</b>	46,09 <sup>***</sup>	48,79 <sup>***</sup>	3,26 <sup>ns</sup>	9,24 <sup>***</sup>	11,70 <sup>***</sup>	2,17 <sup>ns</sup>

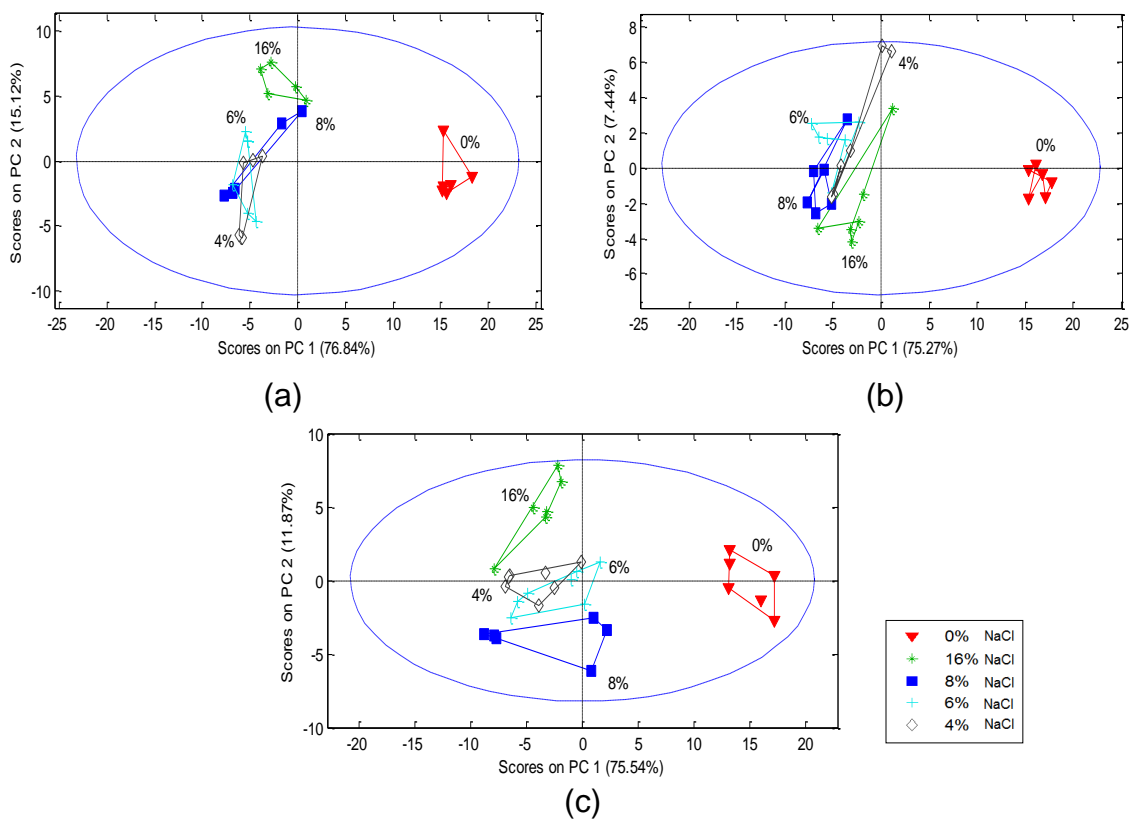
Nivel de significación: ns no hay diferencia significativa; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

### 3.1.2 ESPETROSCOPIA DE IMPEDANCIA

La técnica de espectroscopía de impedancia se empleó como herramienta para detectar los cambios en el músculo de salmón durante el proceso de salado-ahumado. En esta fase del trabajo se estudiaron 3 electrodos diferentes, tal y como se ha descrito anteriormente. El equipo de espectroscopía de impedancia genera para cada una de las medidas realizadas un total de 100 valores, correspondientes a los módulos y fases de las 50 frecuencias analizadas, que se recogen dentro del rango de frecuencias desde 1 Hz hasta 1 MHz, tal y como ya se ha comentado. Debido a que los módulos y fases de la impedancia son variables altamente correlacionadas, se precisa de una herramienta estadística de síntesis de la información, que permita reducir el número de variables del estudio. De este modo, se empleó un Análisis de Componentes Principales (PCA) para cada uno de los electrodos (figura 5). Este análisis permite obtener un número

más reducido de variables ortogonales (componentes principales), capaces de maximizar la varianza explicada del conjunto de datos observables. Los datos de impedancia empleados en este análisis fueron los de las muestras saladas durante 24 horas, debido a que las mayores diferencias en el contenido en NaCl entre los 4 niveles de salado, se obtuvieron para este tiempo.

En la Figura 5.a, 5.b y 5.c se muestran los resultados del análisis de componentes principales (PCA), realizado con los datos obtenidos con el electrodo ED, el PF y el electrodo de aguja, respectivamente, según la cantidad de sal dosificada. Los dos primeros componentes principales explicaron el 91,96%, 82,71% y el 87,44% de la variabilidad total en el caso del ED, PF y aguja, respectivamente.



**Figura 5:** Análisis de componentes principales (PCA) de las medidas de impedancia en muestras saladas con distintos porcentajes de sal durante 24 horas. (a) Electrodo doble, (b) Punta de flecha, (c) Electrodo de aguja.

En los tres casos se puede observar una clara separación de la materia prima (0%) del resto de muestras. Con el electrodo de punta de flecha (figura 5.b) se observa una agrupación de todas las muestras que habían sido sometidas al proceso de salado-ahumado, sin diferenciar entre las distintas proporciones de sal. Sin embargo, con el ED (figura 5.a) se podrían discriminar también las muestras saladas con un 16% de sal, no diferenciando entre el resto. En el electrodo de aguja (figura 5.c), se observan 4 agrupaciones, la muestra fresca, las muestras saladas con el

16%, las muestras saladas con el 8% y en un cuarto grupo se solapan las muestras saladas con un 6 y un 4%. Por tanto, el electrodo que mejor se adaptaría a esta aplicación es el de aguja. Para la siguiente fase del estudio se seleccionó únicamente el electrodo de aguja. Estos resultados confirman la importancia del diseño del sensor de medida (geometría y naturaleza del electrodo).

El hecho de no encontrar una clara correlación entre las medidas de impedancia con el contenido en sal, para los electrodos de punta de flecha y electrodo doble, podría ser debido a que los rangos de variación de sal son muy estrechos, y estos sensores no habrían sido lo suficientemente sensibles para discriminar entre el contenido en cloruro sódico a estos niveles. Por otra parte, hay que tener en cuenta que la impedancia se ve afectada también por el contenido en agua de las muestras. Así, una ganancia de sal implicaría una menor impedancia, pero la pérdida de agua que se produce de forma paralela, estaría aumentando la impedancia eléctrica; de esta forma, los cambios de impedancia debidos a las variaciones de sal se verían atenuados por la pérdida de agua.

### 3.2. Fase II. Monitorización del proceso de salado-ahumado mediante espectroscopía de impedancia

#### 3.2.1 DETERMINACIONES FISICO-QUÍMICAS

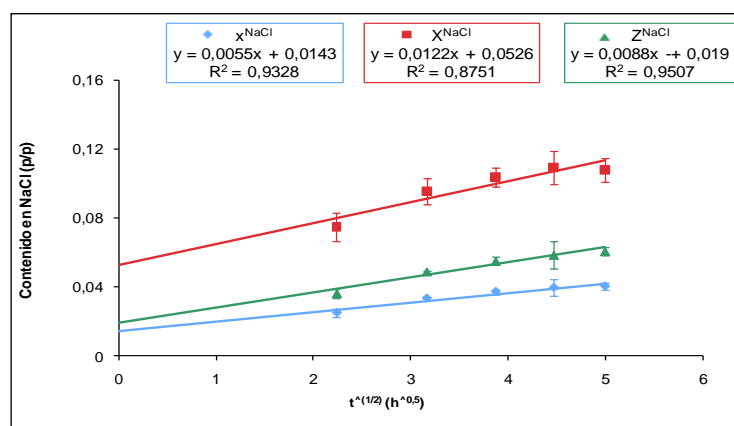
En la tabla 3 se muestra la evolución en los valores de humedad, pH,  $a_w$  y cloruro sódico, de las muestras de salmón sometidas al proceso de salado-ahumado durante 25 h. Los valores de pH disminuyeron con el tiempo, aunque las diferencias encontradas no fueron significativas. El contenido en humedad fue disminuyendo progresivamente durante el proceso de salado, siendo esta disminución mayor al inicio del proceso. Este hecho se debe principalmente a la presencia de cristales de sal en la superficie del producto. La utilización de sal sólida provoca una mayor deshidratación inicial del producto; esta salida de agua del músculo es necesaria para disolver la sal y formar una salmuera superficial en la interfase, que favorece la posterior penetración de la sal hacia el interior de los filetes de pescado. Los valores de sal aumentaron y los valores de  $a_w$  disminuyeron, debido a la deshidratación del músculo y a la penetración de sal.

**Tabla 3.** Parámetros fisicoquímicos de la materia prima (t=0) y de las muestras de salmón sometidas a un proceso de salado-ahumado a vacío durante distintos tiempos de procesado. Valores promedio  $\pm$  SD (n=6)

t (h)	Humedad (%)	pH	$a_w$	NaCl (%)
0	70,97 $\pm$ 2,64 <sup>a</sup>	6,08 $\pm$ 0,04 <sup>ab</sup>	0,991 $\pm$ 0,002 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
5	66,45 $\pm$ 2,56 <sup>b</sup>	6,13 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	0,972 $\pm$ 0,002 <sup>b</sup>	2,49 $\pm$ 0,24 <sup>b</sup>
10	64,90 $\pm$ 1,94 <sup>bc</sup>	6,11 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	0,968 $\pm$ 0,001 <sup>b</sup>	3,33 $\pm$ 0,25 <sup>c</sup>
15	63,91 $\pm$ 2,32 <sup>bc</sup>	6,10 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	0,963 $\pm$ 0,004 <sup>c</sup>	3,72 $\pm$ 0,27 <sup>cd</sup>
20	63,85 $\pm$ 2,84 <sup>cb</sup>	6,08 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup>	0,957 $\pm$ 0,008 <sup>d</sup>	3,97 $\pm$ 0,63 <sup>d</sup>
25	62,42 $\pm$ 2,30 <sup>c</sup>	6,03 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,957 $\pm$ 0,002 <sup>d</sup>	4,02 $\pm$ 0,21 <sup>d</sup>
$\alpha$	***	ns	***	***

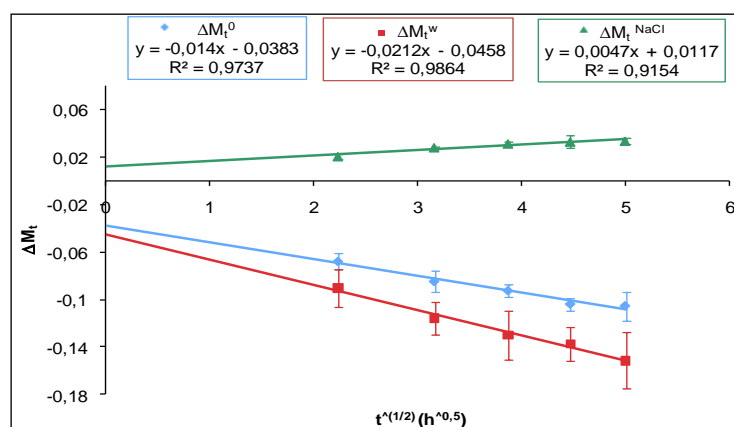
Letras iguales en una misma columna indican la pertenencia a grupos homogéneos. Nivel de significación ( $\alpha$ ): ns no hay diferencia significativa; \*\*\* $p < 0,001$ .

En la figura 6 se observa la evolución del contenido de cloruro sódico ( $x^{\text{NaCl}}$ ,  $X^{\text{NaCl}}$  y  $Z^{\text{NaCl}}$ ) durante el proceso de salado-ahumado. Tal y como se ha comentado, el contenido de NaCl de las muestras aumentó progresivamente con el tiempo de salado, observándose el mayor incremento en el caso de la concentración de sal expresada en base seca ( $X^{\text{NaCl}}$ ), debido a que durante el proceso, además de la incorporación de solutos, en el músculo de pescado se produce una deshidratación osmótica.



**Figura 6.** Fracción másica de NaCl ( $x^{\text{NaCl}}$ ), concentración de NaCl en base seca ( $X^{\text{NaCl}}$ ) y fracción másica de NaCl en la fase líquida de salmón ( $Z^{\text{NaCl}}$ ) frente a la raíz cuadrada del tiempo de procesado ( $t^{0,5}$ ).

Las variaciones de humedad y de cloruro sódico presentaron un comportamiento opuesto a lo largo del periodo de salado, como ya se ha comentado (figura 7).

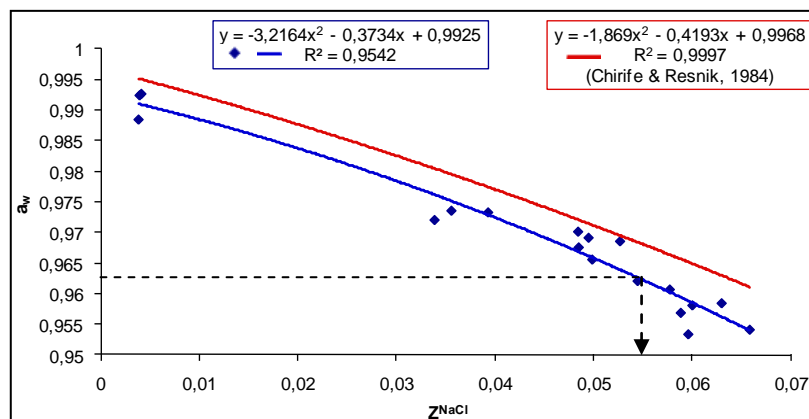


**Figura 7.** Variación de masa total ( $\Delta M_t^0$ ), variación de masa de agua ( $\Delta M_t^W$ ) y variación de masa de cloruro sódico ( $\Delta M_t^{\text{NaCl}}$ ) frente a la raíz cuadrada del tiempo de procesado ( $t^{0,5}$ ).

Las variaciones de peso podrían considerarse una combinación de ambas variaciones de masa, aunque la desnaturalización proteica debida a

la acción de la sal, también estaría contribuyendo a la pérdida de peso observada, tal y como ha sido demostrado por diferentes autores (Barat *et al.*, 2003; Duerr y Dyer, 1952; Ismail y Wootton, 1982). Se puede asumir que se produce un transporte pseudo-difusional debido a la fuerte dependencia de las variaciones de masa con la raíz cuadrada del tiempo, tal y como ha sido expuesto por otros autores (Barat *et al.*, 2006; Fuentes *et al.*, 2008b; Gallart-Jornet *et al.*, 2007; Peppas y Brannon-Peppas, 1994).

En la figura 8 se observa una buena correlación entre la  $a_w$  y la concentración de NaCl en la fase líquida del salmón, similar a la descrita por otros autores (Gallart-Jornet *et al.*, 2007). Estos autores determinaron que cuando el salmón presentaba un valor de  $Z^{\text{NaCl}}$  igual a 0,055 (p/p), la  $a_w$  de las muestras era igual a 0,963, lo que coincide con lo observado en la figura 8. Los ajustes realizados a partir de los valores experimentales permiten establecer que los valores de referencia fijados en este estudio, se alcanzarían a las 15 horas de procesado (tabla 3 y figura 8).



**Figura 8:** Valores de  $a_w$  frente a concentración de sal en la fase líquida del salmón ( $Z^{\text{NaCl}}$ , p/p). La línea azul es la línea de ajuste experimental y la roja representa el comportamiento de una disolución de sal de referencia obtenida por Chirife y Resnik (1984). La línea discontinua muestra el valor objetivo de  $a_w$ .

Cabe destacar que las muestras alcanzaron los niveles objetivo de NaCl y  $a_w$ , en menor tiempo que en el estudio preliminar. Esto es debido a que el proceso de salado depende directamente de la composición y calidad inicial de la materia prima (Barat *et al.*, 2006). En la fase I y fase II de este estudio se emplearon lotes diferentes de salmón fresco; las diferencias en la materia prima habrían provocado estas diferencias en la cinética del proceso. Este hecho confirma la necesidad de disponer de métodos de monitorización rápidos que puedan ser empleados on-line y permitan determinar el punto final del proceso de salado.

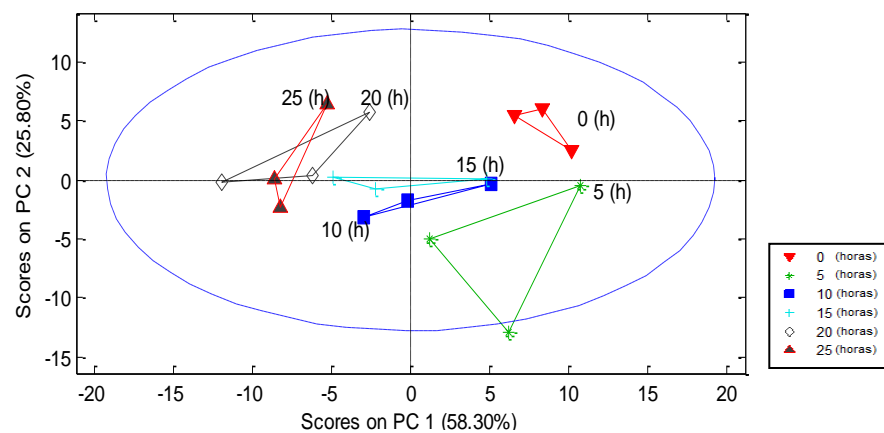
### 3.2.2 ESPECTROSCOPÍA DE IMPEDANCIA

Para estudiar la viabilidad de la espectroscopía de impedancia como herramienta para monitorizar el proceso de salado-ahumado del salmón, en



primer lugar se empleó el mismo procedimiento estadístico descrito para la evaluación de la fase anterior (PCA). En este caso, se emplearon los valores de espectroscopía de impedancia obtenidos a intervalos de 5 h durante 25 h que duró el proceso de salado-ahumado.

En la Figura 9 se muestran los resultados del PCA realizado con los datos obtenidos con el electrodo de aguja, según el tiempo de procesado. Los dos primeros componentes principales explican un alto porcentaje (84,10%) de la variabilidad total. Se puede observar una clara separación de las muestras en función del tiempo de salado, excepto para 20 y 25 h de procesado, cuyas muestras aparecen solapadas en la misma área del gráfico. Estas dos muestras presentaron valores similares en todos los parámetros fisico-químicos, lo que justifica el solapamiento observado.



**Figura 9:** Análisis de componentes principales (PCA) de las medidas de impedancia para distintos tiempos de salado-ahumado.

Debido a que el PCA mostró que la espectroscopía de impedancia con el electrodo de aguja podía discriminar entre distintos niveles de humedad, sal y  $a_w$ , se consideró interesante la utilización de una herramienta estadística para predecir los valores de estos parámetros, a partir de las medidas generadas por el equipo de impedancia. Con este objetivo, se establecieron modelos estadísticos (PLS) para cada uno de los parámetros evaluados con la excepción de pH, cuya evolución durante el tiempo de almacenamiento no había sido significativa. Para la elaboración de los modelos estadísticos PLS, se emplearon el 66% de las muestras en la fase de calibración, mientras el 33% restante de las muestras analizadas se empleó para la validación de los modelos previamente obtenidos, tal y como se ha comentado anteriormente. En la tabla 4 se muestran los estadísticos obtenidos en estos análisis.

**Tabla 4.** Estadísticos obtenidos en los análisis PLS de los parámetros físico-químicos para electrodo de aguja.

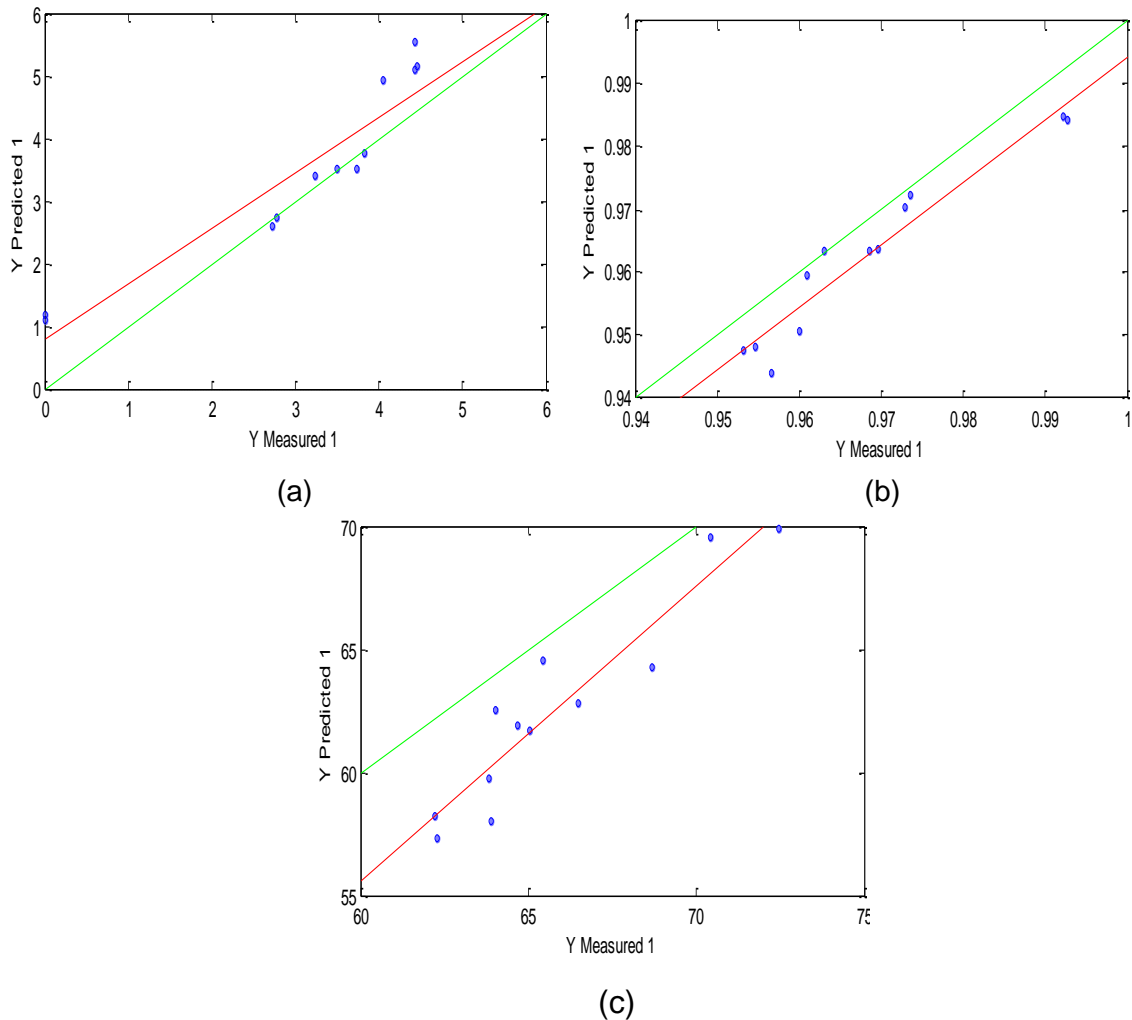
	$R^2$	VL	RMSEP	Pendiente	Ordenada en el origen
<b>NaCl (%)</b>	0,898	3	0,685	0,914	0,685
<b><math>a_w</math></b>	0,923	3	0,006	0,993	0,001
<b>Humedad (%)</b>	0,875	3	3,579	1,20	-16,49

VL: variables latentes. RMSEP: Error cuadrático medio de predicción.

En la Figura 10.a, 10.b y 10.c se representan los valores de cloruro sódico, de  $a_w$  y de humedad, respectivamente, obtenidos experimentalmente frente a los predichos por el modelo estadístico (línea roja).

En los 3 casos, los valores predichos se ajustan satisfactoriamente a los valores obtenidos experimentalmente (RMSEP con valores de 0,685 para NaCl, 0,006 para  $a_w$  y 3,579 para humedad), especialmente en el caso de la  $a_w$ , donde además la ordenada en el origen es cercana a 0 y la pendiente cercana a 1. Estos resultados coinciden con estudios de aplicación de técnicas de espectroscopía de impedancia en la caracterización de salmón y bacalao ahumados comerciales, donde las mejores predicciones fueron obtenidas para el caso de la  $a_w$  (Karásková et al., 2011).

Los resultados obtenidos con el PLS confirman el potencial de la espectroscopía de impedancia empleando el electrodo de aguja, en la monitorización del proceso de salado-ahumado de salmón.



**Figura 10:** Valores predichos por el modelo obtenido frente a datos experimentales para electrodo de aguja. La línea roja representa la línea de ajuste de los datos; la línea verde representa el comportamiento ideal. (a) NaCl (b)  $a_w$  y (c) humedad.

#### **4. CONCLUSIONES**

Los resultados obtenidos a partir de los análisis físico-químicos mostraron que el envasado a vacío provocó una aceleración en el proceso de captación de sal y deshidratación del salmón, efecto observado solo para la dosificación más elevada de sal (16%). Las condiciones óptimas de procesado para obtener un producto similar al comercial correspondieron a un salado con 16% de sazónador durante 24 h, envasando a vacío. El nuevo método permitió obtener salmón ahumado similar al del mercado, reduciendo tiempos de procesado y residuos generados. Es necesario continuar con estudios de evaluación sensorial y vida útil, que permitan determinar si las características organolépticas del salmón obtenido por el nuevo método se adaptan a las de los productos comerciales y presenta una vida útil similar.

De los 3 sensores utilizados en las medidas de espectroscopía de impedancia, el electrodo de aguja fue el que permitió discriminar más claramente entre las diferentes concentraciones de sal del salmón ahumado. Durante el proceso de salado-ahumado a vacío con 16% de sazónador durante 25 h, se produjo un aumento en la concentración de sal y reducción en los valores de humedad y  $a_w$ ; estos cambios fueron detectados mediante la técnica de EI con el electrodo de aguja. A partir de las medidas de impedancia se obtuvieron modelos robustos de predicción del contenido en sal, humedad y  $a_w$ . Los mejores ajustes correspondieron a la predicción de los valores de  $a_w$ , lo que resulta especialmente interesante debido a la relación que existe entre este parámetro y la vida útil de los productos ahumados. Los resultados mostraron el potencial de la EI como método rápido de monitorización on-line del proceso de salado-ahumado de salmón. Este control permitiría ofrecer productos de calidad sensorial homogénea y garantizar un periodo de vida útil seguro para el consumidor.

#### **5. AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto “Aplicación de métodos rápidos basados en la espectroscopia de impedancia y lenguas electrónicas para la evaluación de frescura y calidad de pescado y productos pesqueros” (GV/2011/098), financiado por la Generalitat Valenciana, a la que los autores quieren expresar su agradecimiento. Así mismo, A. Fuentes quiere agradecer la ayuda del Campus de Excelencia Internacional de la Universitat Politècnica de València.

Quiero dar las gracias a mis directoras de tesis por su dedicación y apoyo; a Jose Manuel Barat, a Rafa y a Miguel, y a mis compañeros, Joel, Lupita, María y Ziva por toda su ayuda y comprensión. Gracias a Fernando por darme siempre su máximo apoyo en todo lo que hago.

## 6. REFERENCIAS

- AOAC. 1997. Official Methods of analysis, 16th Ed. Association of Official Analytical chemists, Arlington, Virginia.
- Barat, J.M., Rodríguez-Barona, S, Andrés A., Fito, P. (2003). Cod salting manufacturing analysis. *Food Research International* 36, 447-453.
- Barat, J. M., Rodríguez-Barona, S., Andrés, A., & Ibáñez, J. B. (2004). Modeling of the cod desalting operation. *Journal of Food Science*, 69(4), 183–189.
- Barat, J.M., Gallart-Jornet, L., Andrés, A., Akse, L., Carlehög M., Skjerdal, O. T. (2006). Influence of cod freshness on the salting, drying and desalting stages. *Journal of Food Engineering* 73, 9-19.
- Cardinal, M., Gunnlaugsdottir, H., Bjoernevik, M., Ouisse, A., Vallet, J.L., Leroi, F. (2004). Sensory characteristics of cold-smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) from European market and relationships with chemical, physical and microbiological measurements. *Food Research International*, 37, 181–193
- Chanet, M., Rivière, C., Eynard, P. Electric impedance spectrometry for the control of manufacturing process of comminuted meat products. *Journal of Food Engineering* 42 (1999) 153-159
- Chiralt, A.; Fito, P.; Barat, J.M.; Andrés; A.; González-Martínez, C.; Escriche, I; Camacho, M.M. (2001). Use of Vacuum Impregnation in Food Salting Process. *Journal of Food Engineering*. 49, 141-151.
- Chirife, J., & Resnik, S. L. (1984). Unsaturated solutions of sodium chloride as reference sources of water activity at various temperatures. *Journal of Food Science*, 49, 1486–1488.
- Duerr J. D., Dyer W. J. (1952). Proteins in fish muscle. Denaturation by salt. *Journal Fisheries Board Canada* 8, 325-331.
- Fuentes, A. (2007). Desarrollo de productos ahumados a partir de lubina. (*Dicentrarchus labrax* L.) Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia
- Fuentes A, Fernández-Segovia I, Barat J.M., Serra J.A. (2008a). Physicochemical characterization of some smoked and marinated fish products. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34: 83-103
- Fuentes, A., Barat, J.M., Fernández-Segovia, I., Serra J.A. (2008b). Study of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) salting process: Kinetic and thermodynamic control. *Food Control*, 19, 757-763.
- Fuentes, A.; Fernández-Segovia, I.; Barat, J.M; Serra, J.A. (2010a). Influence of sodium replacement and packaging on quality and shelf life of smoked sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *LWT-Food Science and Technology*, 43, 1426-1433
- Fuentes, A.; Fernández-Segovia, I.; Masot, R.; Alcañiz, M.; Barat, J.M. (2010b). Electronic sensor application in the detection of frozen-unfrozen fish. *International Conference on Food Innovation. Food Innova 2010*.(USB Artículos).
- Fuentes, A., Pérez, M.I., Fernández-Segovia, I., Barat, J.M. (2011). Mejora en el proceso de ahumado de salmón. VI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Valencia. (USB Artículos).
- Gallart-Jornet, L, Barat, J. M., Rustad, T., Erikson, U., Escriche, I., & Fito, P. (2007). Influence of brine concentration on Atlantic salmon fillet salting. *Journal of Food Engineering*, 80(1), 267-275.
- Geddes, L. A. y Baker, L. E. (1989). *Principles of Applied Biomedical Instrumentation*. Wiley-Interscience.
- Guerrero, L. ,Gobantes, I., Oliver, I., Arnau, J., Guardia, M. D., Elvira, J., Riu, P., Grèbol, N., Monfort , JM. Green hams electrical impedance spectroscopy (EIS) measures and pastiness prediction of dry cured hams. *Meat Science* 66 (2004) 289–294.
- Ismail, N., Wootton, M. (1982). Fish salting and drying: a review. *ASEAN Food Journal* 7(4), 175-183.
- Karásková, P., Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Alcañiz, M., Masot, R., Barat, J.M. (2011). Development of a low-cost non-destructive system for measuring moisture and salt content in smoked fish products. *ICEF 2011. Procedia – Food Science*.

- Leroi, F., Joffraud, J.J. (2000). Salt and smoke simultaneously affect chemical and sensory quality of cold-smoked salmon during 5 °C storage predicted using factorial design. *Journal of Food Protection* 63(9), 1222-1227.
- Martens, H., & Martens, M. (2001). *Multivariate Analysis of Quality. An Introduction*. John Wiley & Sons, Inc
- Masot, R. (2010). Desarrollo de un sistema de medida basado en espectroscopía de impedancia para la determinación de parámetros fisicoquímicos en alimentos. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Peppas, N.A., Brannon-Peppas, L. (1994). Water diffusion and sorption in amorphous macromolecular systems and foods. *Journal of Food Engineering* 22, 189-210.
- Thorarinsdottir, K.A., Aarson, S. Thorkelsson, G.Siguurgisladottir, S. Tornberg, E. (2010) The Effects of Presalting Methods from Injection to Pickling, on the Yields of Heavily Salted Cod (*Gadus morhua*). *Journal of Food Science*, 75(8), E544-E551
- Wu, L., Ogawa, Y., Tagawa, A. Electrical impedance spectroscopy analysis of eggplant pulp and effects of drying and freezing-thawing treatments on its impedance characteristics. *Journal of Food Engineering* 87 (2008) 274- 280.