

# APLICACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIAS Y POTENCIOMETRÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICA DEL JAMÓN CURADO

**MÁSTER EN GESTIÓN DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA**

Nombre alumno: Fco. Miguel Cuenca Díaz

Director/a: María Jesús Pagán Moreno  
José Manuel Barat Baviera

Centro: Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica  
y del Medio Natural

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la posible utilización de la espectroscopía de impedancia y de la potenciometría en la determinación de la calidad higiénica del jamón curado. En ambos casos se utilizaron equipos desarrollados por el Instituto de Química Molecular Aplicada de la Universidad Politécnica de Valencia (IQMA, Valencia, España) y conectados a un ordenador con un software que permitía ajustar las condiciones de medida, monitorizar gráficamente la obtención del espectro y registrar los valores obtenidos. En el caso de la espectroscopía de impedancia se utilizaron tres electrodos diferentes en geometría y diseño: la aguja coaxial (AC), el electrodo doble (ED) y la punta de flecha (PF). Para las medidas de potenciometría se emplearon tres sensores: el cepillo, compuesto por electrodos de diferentes materiales (Iridio, Rodio, Platino, Oro, Plata, Cobalto, Cobre y Níquel) y dos más terminados en punta con un ángulo de 30° y 45°. Las mediciones se realizaron en medio líquido ó matriz líquida (sobre el filtrado obtenido para la detección de cloruros) y en la matriz sólida (directamente en la muestra de jamón). Los análisis discriminantes indicaron una mejor capacidad de discriminación entre jamones en base a las medidas de impedancia, la cual estuvo acorde con los valores obtenidos para los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos. Además, las medidas realizadas directamente sobre las muestras sólidas permitieron una mejor discriminación que las realizadas sobre el extracto acuoso, siendo el sensor de elección el electrodo doble. Al correlacionar las medidas de impedancia y potenciometría con los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, los resultados obtenidos indican que ninguno de estos parámetros, por sí mismo, es capaz de explicar las variaciones observadas en las medidas realizadas con estas dos técnicas. No obstante, la cantidad de sal, el nivel de actividad de agua y los recuentos totales (aerobios mesófilos) son los parámetros que mejor correlación presentaron.

## RESUM

L'objectiu del present treball va ser avaluar la possible utilització de l'espectroscòpia d'impedància i de la potenciometría en la determinació de la qualitat higiènica del pernil curat. En ambdós casos es van utilitzar equips desenvolupats per l'Institut de Química Molecular Aplicada de la Universitat Politècnica de València (IQMA, València, España) i connectats a un ordinador amb un programari que permetia ajustar les condicions de mesura, monitoritzar gràficament l'obtenció de l'espectre i registrar els valors obtinguts. En el cas de l'espectroscòpia d'impedància es van utilitzar tres elèctrodes diferents en geometria i disseny: l'agulla coaxial (AC), l'elèctrode doble (ED) i la punta de fletxa (PF). Per a les mesures de potenciometría es van emprar tres sensors: el raspall, compost per elèctrodes de diversos materials (Iridio, Rodi, Platí, Or, Plata, Cobalt, Coure i Níquel) i dos més acabats en punta amb un angle de 30° i 45°. Els mesuraments es van

realitzar al mig líquide o matriu líquida (sobre el filtrat obtingut per a la detecció de cloruros) i en la matriu sòlida (directamente en la mostra de jamón). Les anàlisis discriminants van indicar una millor capacitat de discriminació entre pernils basant-se en les mesures d'impedància, la qual va estar d'acord amb els valors obtinguts per als paràmetres fisicoquímics i microbiològics. A més, les mesures realitzades directament sobre les mostres sòlides van permetre una millor discriminació que les realitzades sobre l'extracte aquós, sent el sensor d'elecció l'elèctrode doble. Al correlacionar les mesures d'impedància i potenciometria amb els paràmetres fisicoquímics i microbiològics, els resultats obtinguts indiquen que cap d'estos paràmetres, per si mateix, és capaç d'explicar les variacions observades en les mesures realitzades amb estes dos tècniques. No obstant això, la quantitat de sal, el nivell d'activitat d'aigua i els recomptes totals (aerobios mesófilos) són els paràmetres que millor correlació van presentar.

## **ABSTRACT**

The aim of this study was to determine the ability of the impedance and potentiometric techniques to determine the hygienic condition of dry cured ham. In both cases equipments developed by the Instituto de Química Molecular Aplicada of the Universidad Politécnica de Valencia (IQMA, Valencia, España) were used, plugged to a computer with a software which allowed to fit the measurement conditions, monitoring graphically the spectrum obtained and register the measured results. In the impedance spectroscopy, three different shape and design electrodes were employed: Concentric Needle (AC), Double Electrode (ED) and Arrowhead (PF). In the potentiometric measures three sensors were used: the brush, composed by electrodes from different materials: Iridium, Rhodium, Platinum, Gold, Silver, Cobalt, Copper and Nickel; and two more pointed end with an angle of 30° and 45°. The measurements were made in liquid medium (with the filtrate obtained in the detection of chlorides) and in solid medium (directly in the ham sample). The discriminant analysis showed a better capacity of discrimination between hams in case of the impedance measurements, which matched with results obtained with the physicochemical and microbiological analysis. In addition, the measures made directly over the solid samples allowed a better discrimination than those made in liquid extract, being the ED the best election. When impedance and potentiometric measures where correlated with physicochemical and microbiological parameters, the results showed that any of these parameters, by themselves, were able to explain the observed variations in the measurements made with these two techniques. However, the amount of salt, water activity level and total recouns (aerobic mesophiles) are the parameters that showed a better correlation.

## INTRODUCCIÓN

Existen diferentes alteraciones descritas en el jamón curado, entre las que destacan: cala o putrefacción profunda (“bone taint” en inglés), jamón hinchado o “bombo”, presencia de ácaros, reverdecimiento, etc. Cerca del 1-2% de la producción española de jamón sufre estas alteraciones, cantidad nada despreciable si tenemos en cuenta que se producen unos 20 millones de jamones anualmente en España (Paarup et al., 1999). Se sabe que en la aparición de alteraciones pueden ser claves factores como la actividad de agua, la concentración de cloruros, el pH y la temperatura a la que transcurre el proceso de producción del jamón. Estos pueden condicionar el desarrollo de microorganismos alterantes como enterobacterias de las especies *Serratia liquefaciens* y *Proteus vulgaris* (Marín y et al., 1996; Losantos et al., 2000; García et al 2000), así como *Enterobacter cloacae* (Paarup et al., 1999). También pueden estar involucrados otros microorganismos tales como *Micrococcus*, *Clostridium*, bacterias ácido lácticas y *Staphylococcus* (Marín, 1993).

La putrefacción profunda o “bone taint”, ocurre fundamentalmente en los músculos que circundan la estructura ósea del jamón y se caracteriza por una textura pastosa y mal olor (García et al., 2000). Esta alteración se produce por una proteólisis originada por el crecimiento microbiano y en la que se producen compuestos como péptidos, aminoácidos, aminor, amonio, sulfatos, alcoholes, aldehídos y otros compuestos orgánicos indeseables (García et al, 2000). Los microorganismos predominantes son enterobacterias y cocos Gram-positivos catalasa positivos, también se ha relacionado con la presencia de bacterias ácido-lácticas (García et al, 2000).

Los jamones con la alteración denominada “bombo” poseen una característica añadida a los jamones con putrefacción profunda: la producción de gas, que confiere al jamón un aspecto hinchado (Carrascosa et al., 1997). Esta alteración fue inicialmente atribuida al desarrollo de enterobacterias (Arnau, 1987; Marín, 1992). Estudios posteriores relacionan la producción de gas en jamones sujetos a esta alteración a la presencia de *Serratia liquefaciens* (Carrascosa et al., 1997).

Los métodos analíticos tradicionales empleados en la actualidad pueden ser lentos y laboriosos. En algunos casos precisan de mucho tiempo para conocer los resultados, como es el caso de los recuentos microbianos por las técnicas clásicas, en los que generalmente se necesita un tiempo de espera prolongado condicionado por el periodo de incubación de los microorganismos. Por lo tanto, la utilización de técnicas analíticas no destructivas para la identificación de estos tipos de alteraciones, en el jamón curado, sería de gran utilidad para la industria.

Así, la espectroscopía de impedancias ha sido utilizada como herramienta no destructiva en la caracterización de muchos alimentos de acuerdo a su composición, principalmente en el estudio de tejidos animales y vegetales (Hayasi et al., 1992; Kent et al., 1996; Chanet et al., 1999; Altmann et al., 2005; Daza et al., 2006). Las propiedades eléctricas de un alimento, y por lo tanto la impedancia, dependen de diversos factores como el efecto

capacitivo de las membranas, las propiedades aislantes de la grasa, el poder conductivo del agua y las soluciones salinas, la configuración geométrica y el volumen de muestra analizada (Chanet et al., 1999). La ley de Ohm, define la resistencia al paso de una corriente eléctrica como  $R = V/I$ , donde  $V$  es la diferencia de potencial e  $I$  es la corriente eléctrica. Sin embargo, su aplicación se encuentra limitada a circuitos con un resistor ideal, es por ello que se utiliza el concepto de impedancia, que describe mejor el comportamiento de circuitos reales. De esta manera, la impedancia se define como  $Z = V/I$  (Ramirez, 2009). Sin embargo, en corriente alterna,  $Z$  es un número complejo que depende del valor de la frecuencia y que puede escribirse como  $Z = R + Xj$ , donde la parte real ( $R$ ), se denomina Resistencia real, y la parte imaginaria ( $X$ ), se conoce como Reactancia (Pliquett et al., 2003). Otra manera de expresar el vector de la impedancia es en función del módulo,  $|Z| = (R^2 + X^2)^{1/2}$ , y del ángulo o fase (Serway, 2002). La espectroscopía de impedancias se basa en obtener valores de módulos y fases para un barrido de frecuencias. Una vez obtenidos los espectros, a través de programas informáticos estadísticos, se puede manipular la enorme cantidad de datos generados e interpretarlos en base a análisis discriminantes y regresiones. En productos cárnicos se han realizado diferentes estudios que emplean la espectroscopía de impedancias, tanto para productos terminados como para animales vivos (Kent et al., 1996; Chanet et al., 1999; Altmann et al., 2005; Daza et al., 2006), generalmente como herramienta para describir sus propiedades fisicoquímicas en base a las variaciones observadas en las medidas de impedancia. En estos productos, el desarrollo microbiano juega un papel fundamental, como en el caso de los productos crudo-curados. El desarrollo de aromas, sabores, el color y la textura se debe en gran parte a la microbiota presente. En cualquier caso, los diferentes grupos de microorganismos influyen en distinto grado en la composición y características fisicoquímicas del producto, que pueden ser marcadamente diferentes cuando se desarrollan microorganismos alterantes. Éstos, en estados avanzados de desarrollo, ocasionan aromas ácidos o pútridos como consecuencia de fenómenos de proteólisis o lipólisis intensos, y pueden afectar la estructura y propiedades de la pieza a nivel macroscópico.

En los últimos años se han desarrollado técnicas analíticas tales como la nariz y la lengua electrónica. Éstas se basan en la manera en que los mamíferos reconocen los alimentos a través del olfato y del gusto (Gil et al., 2008). Se han desarrollado diferentes lenguas electrónicas, las más utilizadas se basan en electrodos potenciométricos. Actualmente, se están desarrollando sensores metálicos debido a su estabilidad a largo plazo (Kaneki, 2004). La potenciometría es una técnica electroanalítica basada, entre otros aspectos, en la polarización espontánea de los metales y otros

elementos en presencia de ciertos compuestos químicos (Soto et al., 2006). Los cambios en el potencial redox de los electrodos se dan por procesos inespecíficos en los que pueden intervenir un gran número de variables relativas a la composición y características de la muestra como por ejemplo: pH, potencial redox y reacciones de ciertas moléculas en la superficie de los electrodos. Todos estos cambios pueden ser responsables de variaciones significativas en el potencial de los electrodos. Sin embargo es este comportamiento inespecífico lo que hace que los electrodos metálicos sean aptos para la fabricación de lenguas electrónicas (Gil et al., 2010).

Las nuevas tendencias en potenciometría se encaminan hacia el uso de dispositivos para detecciones no específicas, combinados con procesadores de datos informatizados, que puedan determinar la composición de una muestra y transmitir información acerca de la misma (Pravdová et al., 2002). Actualmente esta técnica se utiliza para la detección de analitos en muestras líquidas (lengua electrónica) o para gases y espacios de cabeza (nariz electrónica) (Gallardo et al., 2005). Así, el uso de sensores array potenciométricos no selectivos, en combinación con PCA (Análisis de Componentes Principales), empieza a ser una firme alternativa analítica para la clasificación o identificación, especialmente en análisis de alimentos (Deisingh et al., 2004). Por ejemplo, Toko (2000) usó esta técnica con éxito para clasificar varias bebidas, incluyendo vino y agua. Ciosek et al (2004) fueron capaces de distinguir el mismo tipo de bebida de diferentes marcas usando métodos similares. Por otra parte, estas técnica se han utilizado en la evaluación de la frescura de carne y pescado (Kaneki et al., 2004; Gil et al 2008; Gil et al., 2011).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la posible utilización de la espectroscopia de impedancia y de la potenciometría en la determinación de la calidad higiénica del jamón curado.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Plan de trabajo**

El plan de trabajo seguido en el estudio se esquematiza en la FIGURA 1.

### **Materia prima**

Para la realización de este estudio se utilizaron 9 jamones curados de aproximadamente 8 Kg de peso todos ellos procedentes de la misma empresa productora. Los jamones fueron clasificados por la empresa en tres lotes de 3 jamones cada uno. El primer lote fue definido como jamones sin

alteraciones (P), el segundo como jamones con cala (C) y el tercero como jamones hinchados ó con bombo (B).

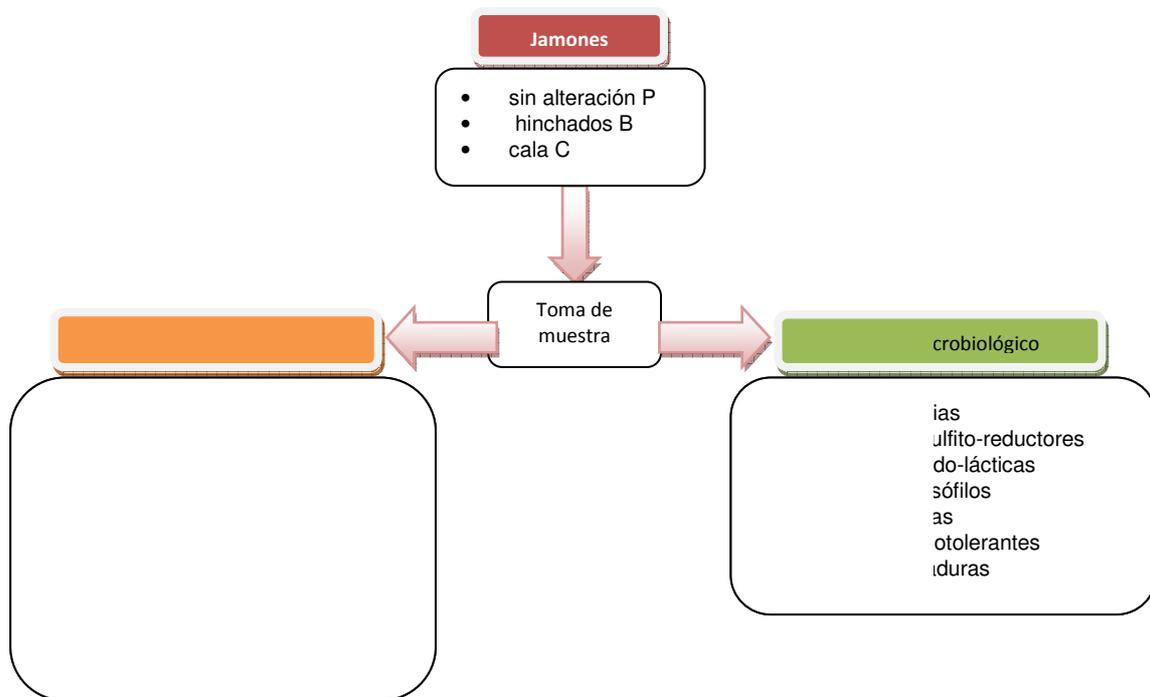


FIGURA 1. Esquema del plan de trabajo.

### Toma de muestra

La toma de muestra se realizó en tres zonas (figuras 2 y 3):

- M1 correspondiente a la zona más cercana a la unión coxo-femoral, tomándose muestras a ambos lados de dicha unión (M1<sub>A</sub> y M1<sub>B</sub>).
- M2 correspondiente a una zona más alejada de la unión coxo-femoral y a ambos lados de la zona M1 (M2<sub>A</sub> Y M2<sub>B</sub>).
- B que se obtuvo en una zona alejada de la articulación principal y cercana a la pazuña, a la altura de la tibia y peroné.

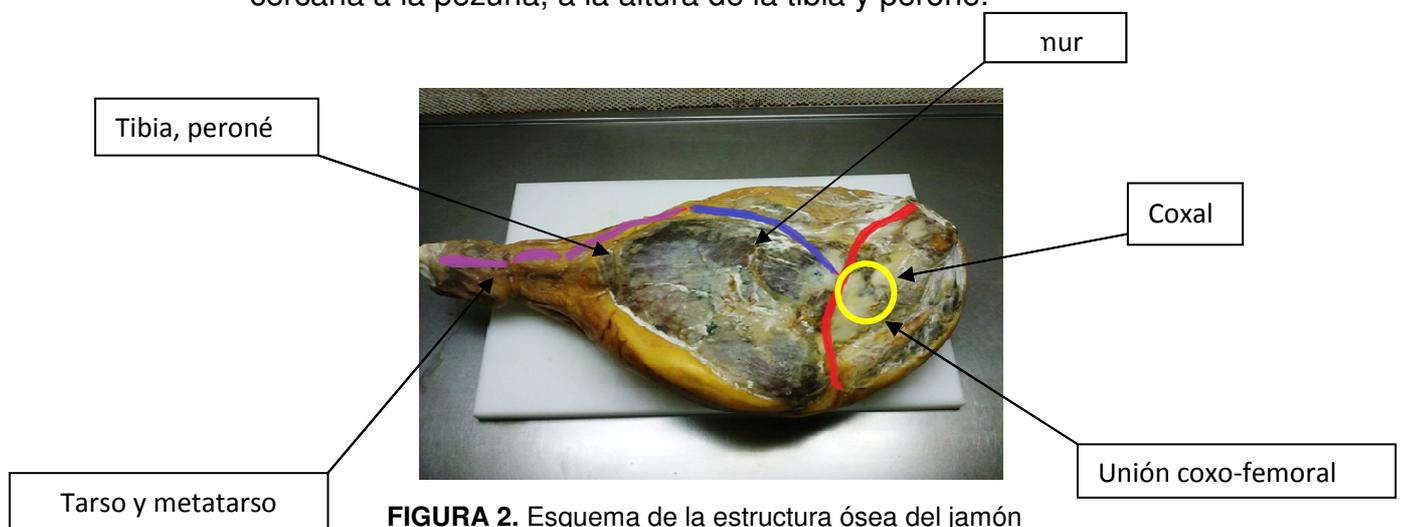
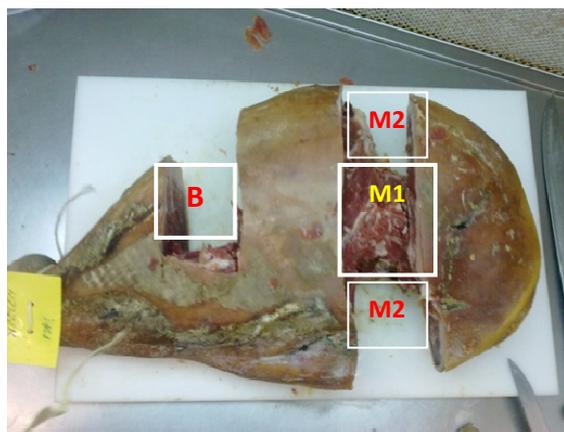


FIGURA 2. Esquema de la estructura ósea del jamón



**FIGURA 3.** Jamón con las zonas de interés extraídas

### **Determinaciones físico-químicas**

Para cada una de las muestras se determinaron los siguientes parámetros fisicoquímicos por triplicado:

- Aw → la determinación de la actividad de agua se realizó mediante el equipo Aqualab GB-X modelo FA-st lab (GBX, Romans-sur-Isère, Francia), previa calibración con una disolución saturada de sulfato potásico y trabajando a una temperatura de 25°C. Este equipo está basado en la determinación mediante el punto de rocío.
- pH → se midió por punción con un pH-metro Crison-507 (Crison Instruments S.A, Barcelona, España).
- Humedad → este parámetro se determinó siguiendo el procedimiento establecido en la norma ISO R-1442 (1973).
- Cloruros → para la determinación del contenido en sal se procedió al análisis de los iones cloruros para lo que se utilizó un analizador automático (Sherwood Chloride Analyzer, modelo 926, Sherwood Scientific Ltd, Cambridge, Reino Unido). Se pesó 1 g de muestra y se trituró a 9000 rpm durante 5 minutos en un homogeneizador Ultra-turrax modelo T25 (Janke & Kundel, Staufen, Alemania) con adición de agua destilada para favorecer su disgregación y la liberación de sales solubles. El homogeneizado así obtenido se trasvasó a un matraz aforado de 100 mL, enrasándose con agua destilada hasta el volumen indicado y posteriormente se filtró. Para realizar la medida se tomaron 2 mL de filtrado y se añadieron 10 mL de agua destilada. El extracto así obtenido se diluyó con el fin de obtener resultados significativos que estuvieran dentro del rango de medida del equipo.
- Espectroscopia de impedancia → las medidas de impedancia se realizaron utilizando un equipo analizador de respuesta en frecuencia y voltametría (V. 1.0), desarrollado por el Instituto de Química Molecular Aplicada de la Universidad Politécnica de Valencia (IQMA, Valencia, España). El equipo estaba conectado a un ordenador con

un software que permitía ajustar las condiciones de medida, monitorizar gráficamente la obtención del espectro y registrar los valores de módulos y fases para el rango de frecuencias empleado, establecido entre 1 Hz y 1 MHz. Se utilizaron tres electrodos diferentes en geometría y diseño para evaluar su efectividad. Uno de ellos fue la aguja coaxial (AC), elaborada en acero inoxidable, con un ángulo de 15°, longitud de 75 mm, diámetro del electrodo interno de 0,64 mm y área de 0,07 mm<sup>2</sup> (Viasys Healthcare, Madison, WI, EE.UU). Los otros dos electrodos fueron el electrodo doble (ED) y la punta de flecha (PF), prototipos desarrollados por el Departamento de Ingeniería Electrónica del Instituto de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico. El ED consiste en dos agujas de acero inoxidable (diámetro de 1 mm y longitud efectiva de 15 mm) separadas por una distancia de 10 mm, e incluidas en un bastidor de resina epoxi. El diseño del electrodo PF se basa en la tecnología híbrida de circuitos de *capa gruesa* (*Thick-Film technology*), al estar el circuito eléctrico dispuesto en un sustrato aislante. Las mediciones se realizaron en medio líquido ó matriz líquida (sobre el filtrado obtenido para la detección de cloruros, introduciendo los electrodos por completo en el medio) y en la matriz sólida (directamente en la muestra de jamón, manteniendo constante la profundidad de penetración de los electrodos).

- Potenciometría→ las medidas de potenciometría se llevaron a cabo mediante un equipo diseñado por el Instituto de Química Molecular Aplicada de la Universidad Politécnica de Valencia (IQMA, Valencia, España). El equipo, al igual que el de impedancia, estaba conectado a un ordenador con un software que permitía ajustar las condiciones de medida, monitorizar gráficamente la obtención del espectro y registrar los valores obtenidos. Se utilizaron tres sensores: el cepillo compuesto por electrodos de diferentes materiales (Iridio, Rodio, Platino, Oro, Plata, Cobalto, Cobre y Níquel) y dos más terminados en punta con un ángulo de 30° y 45°. De la misma forma que en el caso de las medidas de impedancia, las mediciones se realizaron en medio líquido y en medio sólido. En todos los casos las medidas se tomaron durante 10 minutos obteniéndose señales cada 5 segundos.

### **Análisis microbiológico**

Se tomaron aproximadamente 9 g de muestra de cada zona, se diluyeron con agua de peptona y se estudiaron los siguientes grupos de microorganismos con sus respectivos medios, temperaturas y tiempo de incubación, por duplicado:

- Enterobacterias→ medio VRBG (agar Violeta Rojo Bilis Glucosa; Scharlau, Chemie, S.A., Barcelona, España), 24h, 37°C (ISO 21528-2/2004).

- Clostridios sulfito reductores→ medio SPS (agar Sulfito polimixina sulfadiazina; Scharlau, Chemie, S.A., Barcelona, España), 48h, 47°C (Tomlinson, 1995).
- Bacterias ácido lácticas→ medio MRS (agar de Man, Rogosa y Sharpe, Difco, BD & Co., Sparks, MD., EE.UU), 48h, 37°C (ISO 15214/1998).
- Aerobios mesófilos→ medio PCA (agar Plate Count; Scharlau, Chemie, S.A., Barcelona, España), 72h, 30°C. (UNE-EN ISO 4833).
- Micrococáceas→ medio MSA (agar Manitol Sal; Scharlau, Chemie, S.A., Barcelona, España), 72h, 30°C (Cordero, 2000).
- Halotolerantes→ medio PCA 10% sal, 72h, 30°C (Tomlinson, 1995).
- Mohos y levaduras→ medio CGA (agar Cloranfenicol Glucosa; Scharlau, Chemie, S.A., Barcelona, España), 5 días, 25°C (ISO 7954/1987).

### **Análisis estadístico**

Para evaluar la significación de los factores y sus interacciones se realizaron ANOVAs. Cuando estos resultaron significativos ( $p < 0.05$ ) se analizaron las diferencias entre los distintos niveles mediante Pruebas de Múltiple Rangos utilizando el procedimiento de Diferencia Mínima Significativa de Fisher (LSD). La diferenciación entre muestras en base a las medidas de impedancia, se determinó a través de Análisis Discriminantes precedidos de Análisis de Componentes Principales (PCA) en el que los componentes extraídos estaban limitados a aquellos con un eigenvalor mayor o igual a 1. Para correlacionar los datos fisicoquímicos y microbiológicos con las medidas de impedancia se realizaron Análisis de Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS) en los cuales la validación cruzada se realizó extrayendo una observación a la vez. Se tomó como variable independiente los resultados del PCA y como variable dependiente los recuentos microbiológicos y resultados de los análisis físico-químicos. En todos los casos se utilizó el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV versión 15.2.06 (Manugistics Corp., Rockville, EE.UU), con un nivel de confianza de 95%.

En el caso de las medidas de potenciometría se utilizó el programa estadístico SOLO versión 6.3 (Eigenvalor Research, Inc., Washington, EE.UU), con un nivel de confianza del 95%. El tratamiento de estos datos se realizó aplicando un PLS, tomando como variable independiente los valores de potenciometría y como variable dependiente los recuentos microbiológicos y resultados de análisis físico-químicos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la TABLA 1 se muestran los resultados obtenidos para las determinaciones fisicoquímicas: Aw, pH, cloruros y humedad. No se observaron diferencias significativas entre las distintas zonas analizadas (M1, M2 y B) independientemente del tipo de jamón. Con respecto al factor jamón sí que se detectaron diferencias ( $p < 0.05$ ) entre los distintos tipos analizados (P: sin alteración, C: con cala y B: hinchados) para: actividad de agua, pH y cloruros ( $p < 0,05$ ). La humedad fue el único parámetro en el que el factor jamón no resultó significativo ( $p = 0,294$ ).

Los resultados de Aw y contenido en sal indican diferencias entre los tres tipos de jamones en estudio. Para la actividad de agua los valores más elevados se obtuvieron para los jamones hinchados seguidos por los jamones con cala y por último los jamones sin alteración. En cuanto al contenido en sal, las menores concentraciones de cloruros se detectaron en los jamones hinchados y las mayores en aquellos en los cuales no existían alteraciones. En lo referente a cloruros el comportamiento observado en este trabajo coincide con lo mencionado por Marín et al (1992) para jamones de curación larga. El comportamiento de estos dos parámetros fisicoquímicos indica la correlación existente entre ellos, tal y como sugieren Monin et al (1997) y su posible influencia sobre la aparición de alteraciones.

En el caso del pH las diferencias únicamente se establecieron entre jamones alterados y patrón, observándose valores significativamente superiores para las muestras B y C.

**TABLA 1.** Caracterización fisicoquímica de los jamones (P: sin alteración, C: cala y B: hinchado) y zonas (M1, M2 y B) analizados.

Jamón	Aw	pH	cloruros	humedad
P M1	0,924±0,001	5,84±0,01	0,054±0,003	0,420±0,010
P M2	0,923±0,002	5,80±0,04	0,057±0,004	0,395±0,009
P B	0,922±0,005	5,90±0,03	0,054±0,004	0,448±0,012
<b>Media ± DE</b>	<b>0,923±0,001<sup>a</sup></b>	<b>5,84±0,06<sup>a</sup></b>	<b>0,055±0,002<sup>a</sup></b>	<b>0,421±0,019<sup>a</sup></b>
C M1	0,928±0,002	5,91±0,04	0,048±0,002	0,434±0,018
C M2	0,928±0,002	5,92±0,04	0,045±0,004	0,457±0,017
C B	0,933±0,002	5,96±0,05	0,046±0,002	0,444±0,011
<b>Media ± DE</b>	<b>0,930±0,003<sup>b</sup></b>	<b>5,93±0,03<sup>b</sup></b>	<b>0,047±0,002<sup>b</sup></b>	<b>0,445±0,018<sup>a</sup></b>
B M1	0,936±0,003	5,96±0,03	0,040±0,002	0,419±0,025
B M2	0,934±0,002	6,04±0,08	0,040±0,005	0,484±0,010
B B	0,935±0,004	5,88±0,03	0,035±0,002	0,389±0,025
<b>Media ± DE</b>	<b>0,935±0,001<sup>c</sup></b>	<b>5,96±0,09<sup>b</sup></b>	<b>0,038±0,003<sup>c</sup></b>	<b>0,431±0,035<sup>a</sup></b>

Las medias con diferente letra indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según el test LSD.

Cloruros: expresado en cantidad de cloruros por gramo de muestra.

Humedad: expresado en cantidad de agua por gramo de muestra.

Atendiendo a los resultados obtenidos, los jamones con alteración presentaron mayores valores de  $A_w$ , menor concentración en cloruros y un pH más elevado, coincidiendo con los resultados obtenidos por Marín et al (1992). Considerando que para un producto de calidad los valores de cloruros se situarían entre 6-10% y los de actividad de agua en 0,85 (Rodríguez et al., 1994), los valores obtenidos en este estudio se alejan de este estándar lo que explicaría la aparición de alteraciones.

Respecto a la humedad, los resultados obtenidos, vienen a confirmar los estudios que indican que a priori, el nivel de humedad final del jamón no sería un indicador de posible alteración (Pérez et al., 2010).

Los resultados referentes a los análisis microbiológicos se reflejan en la TABLA 2. Al igual que en el caso de los parámetros fisicoquímicos, no se observaron diferencias significativas entre las distintas zonas analizadas pero sí con respecto al tipo de jamón.

**TABLA 2.** Caracterización microbiológica de los jamones (P: sin alteración, C: cala y B: hinchado) y zonas (M1, M2 y B) analizados.

	aerobios mesófilos	ácido lácticas	enterobacterias	micrococáceas	halotolerantes	mohos y levaduras
Jamón	log ufc/g	log ufc/g	log ufc/g	log ufc/g	log ufc/g	log ufc/g
P M1	3,99±1,6	2,55±2,66	0,74±2,60	2,10±2,06	4,04±1,49	3,70±1,07
P M2	3,85±0,64	1,81±1,78	0,99±1,94	2,08±2,14	4,04±0,50	4,06±0,61
P B	3,75±0,75	0,00±0,01	0,80±1,39	0,93±1,82	3,92±0,28	3,90±0,52
<b>Media ± DE</b>	<b>3,77±0,51<sup>a</sup></b>	<b>1,45±1,36<sup>a</sup></b>	<b>0,85±0,61<sup>a</sup></b>	<b>1,718±0,169<sup>a</sup></b>	<b>4,00±0,65<sup>a</sup></b>	<b>3,89±0,29<sup>a</sup></b>
C M1	3,95±0,27	1,81±1,78	0,42±0,82	4,27±0,50	4,51±0,79	4,02±0,43
C M2	4,56±0,66	1,81±1,77	1,09±2,13	4,65±0,97	4,94±1,13	4,13±0,23
C B	4,33±1,36	2,09±2,18	1,25±2,44	3,93±0,52	4,34±1,31	4,39±0,44
<b>Media ± DE</b>	<b>4,280±0,553<sup>a</sup></b>	<b>1,90±0,23<sup>a</sup></b>	<b>0,92±0,86<sup>a</sup></b>	<b>4,28±0,27<sup>b</sup></b>	<b>4,60±0,27<sup>b</sup></b>	<b>4,18±0,12<sup>a</sup></b>
B M1	6,09±0,30	4,20±0,48	1,85±1,86	4,82±0,49	4,87±0,60	4,81±0,70
B M2	6,31±0,50	4,50±0,54	2,33±2,13	5,52±1,64	5,74±2,01	5,59±1,81
B B	5,31±2,52	2,61±2,58	1,31±2,56	3,70±3,66	4,49±1,10	4,67±1,43
<b>Media ± DE</b>	<b>5,90±1,23<sup>b</sup></b>	<b>3,77±1,20<sup>b</sup></b>	<b>1,83±0,35<sup>a</sup></b>	<b>5,01±1,61<sup>b</sup></b>	<b>5,03±0,71<sup>b</sup></b>	<b>5,02±0,57<sup>b</sup></b>

Las medias con diferente letra indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según el test LSD.

Así, para aerobios mesófilos, bacterias ácido lácticas y mohos y levaduras los recuentos no presentaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los jamones sin alteraciones (P) y en los jamones con cala (C) y estos difirieron significativamente de los detectados en los jamones hinchados (B) siendo en estos últimos más elevados. El incremento en la microbiota total, en jamones hinchados, coincide con los resultados obtenidos por otros autores (De Jesús et al., 2010) los cuales mencionan niveles de 6.86 y 4.02 unidades logarítmicas para jamones hinchados y normales, respectivamente. Además, los niveles observados en el presente estudio para los jamones sin alteración, al final del proceso de elaboración, son incluso inferiores a los mencionados por Marín (1993). El comportamiento respecto a la flora láctica fue similar al observado para aerobios mesófilos observándose mayores recuentos en los jamones hinchados respecto a los otros dos tipos de

jamones estudiados. Así, diversos autores atribuyen la presencia de gas en jamones sujetos a esta alteración a la presencia de bacterias ácido-lácticas junto con enterobacterias (Zeller & Renz, 1967; Giolitti et al., 1971; Hechelmann et al., 1980; Simonetti et al., 1983; Arnau et al., 1986; Lenges, 1986; Poma, 1987). No obstante, en este estudio no se detectó un incremento significativo de este último grupo microbiano para jamones hinchados. Los recuentos más elevados de enterobacterias podrían relacionarse con una mayor degradación de proteínas miofibrilares, en particular troponina y tropomiosina, lo que influye en la textura del jamón, tal como describe Martín et al (2008). Además, este grupo de bacterias se ha perfilado como común en las superficies de trabajo en industria cárnica (Kuri et al., 1996; Marín et al., 1996), lo que podría favorecer la contaminación de las piezas cárnicas, que, junto con la habilidad para crecer a bajas temperaturas y anaerobiosis (Jones, 1998) podría desencadenar la putrefacción profunda o “cala”. Los recuentos más elevados de mohos y levaduras en jamones hinchados podrían indicar un mayor grado de proteólisis (Rodríguez et al., 1998), coincidiendo con los resultados de Núñez et al (1996).

En cuanto al grupo de bacterias halotolerantes y micrococáceas, no se observaron diferencias significativas entre los jamones alterados (C y B) presentando recuentos significativamente superiores a los jamones P, lo que coincide con los resultados de Marín et al (1992) y De Jesús et al (2010). Dada la tolerancia a la sal de las micrococáceas, un aumento en la población de estos microorganismos va acompañado de un alto recuento de halotolerantes. Por otro lado, muchos autores señalan que son las bacterias predominantes en el jamón curado, especialmente el género *Staphylococcus* y la especie *S. xylosus* (Rodríguez, 1994; García, 2000; Córdoba, 2001). Además de su carácter halotolerante, su resistencia a bajas Aw y altas presiones osmóticas, hace posible que puedan estar presentes en las diferentes etapas del proceso de elaboración. La actividad proteolítica y lipolítica de estos microorganismos también se ha relacionado con las características organolépticas finales del jamón curado no alterado (Rodríguez et al., 1994). Marín et al (1996) destaca como agentes responsables de la alteración profunda, además de las enterobacterias, a *Micrococcus sp.* y *Lactobacillus sp.*

Cabe destacar que no se encontró presencia de *Clostridium* en ninguna de las muestras analizadas. Esto puede deberse a que tanto las células vegetativas como sus esporas, se inhiben en presencia de las sales de curado (Kemp et al., 1980).

## **Espectroscopia de impedancia**

Se analizaron los espectros de impedancia para los tres tipos de jamones objeto del presente estudio. Las mediciones se realizaron en medio líquido (sobre el filtrado obtenido para la detección de cloruros) y en la matriz sólida (directamente en la muestra de jamón).

Con los resultados obtenidos de las medidas de impedancia se realizó un análisis de componentes principales (PCA) con la finalidad de reducir el

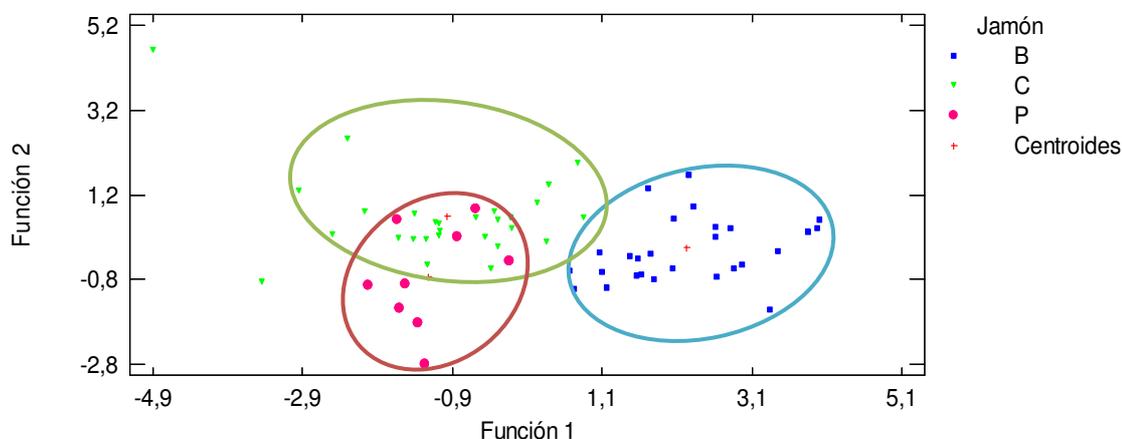
número de variables iniciales (50 variables correspondientes a módulos y 50 a fases). Con los datos obtenidos del PCA se realizó un análisis discriminante, cuyos resultados se expresan en la TABLA 3.

**TABLA 3.** Análisis discriminante para impedancia

Electrodos	Casos correctamente clasificados	Función	Eigenvalor	Porcentaje relativo	Correlación canónica	Lambda de Wilks	Chi-Cuadrada	GL	Valor-P
<b>Matriz líquida</b>									
Aguja coaxial	63,74%	1	1,59195	88,63	0,78370	0,320361	291,9758	12	< 0,05
		2	0,204297	11,37	0,41187	0,83036	47,6823	5	< 0,05
Electrodo Doble	69,78%	1	1,1079	82,39	0,72498	0,383581	252,0076	10	< 0,05
		2	0,23678	17,61	0,43755	0,808551	55,8905	4	< 0,05
Punta de flecha	73,75%	1	2,42191	90,84	0,84129	0,234871	368,6988	8	< 0,05
		2	0,244233	9,16	0,44305	0,803708	55,6132	3	< 0,05
<b>Matriz sólida</b>									
Aguja coaxial	82,56%	1	3,02696	81,31	0,86699	0,146453	154,6445	12	< 0,05
		2	0,695603	18,69	0,64050	0,589761	42,5071	5	< 0,05
Electrodo Doble	84,71%	1	2,52265	87,48	0,84624	0,208581	126,1779	8	< 0,05
		2	0,360992	12,52	0,51502	0,734758	24,8112	3	< 0,05
Punta de flecha	66,67%	1	0,501757	83,48	0,57803	0,605733	39,3533	12	< 0,05
		2	0,0993065	16,52	0,30056	0,909664	7,4323	5	< 0,05

En el caso de las mediciones realizadas en medio líquido los resultados obtenidos muestran que la PF fue el electrodo que mejor discriminó entre grupos de jamones con un 73,75% de casos correctamente clasificados, seguido del ED con un 69,78%.

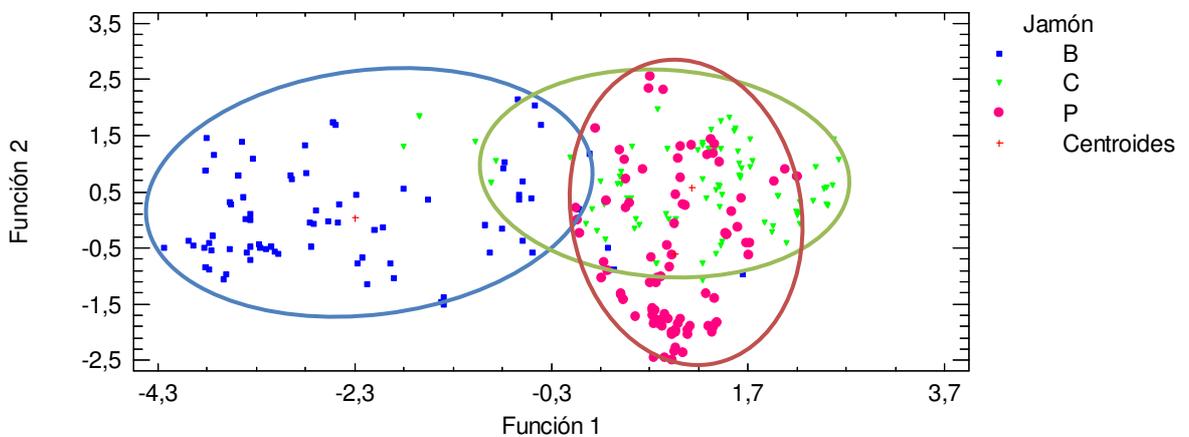
En la FIGURA 4, se muestran las funciones discriminantes de las medidas de impedancia para electrodo PF.



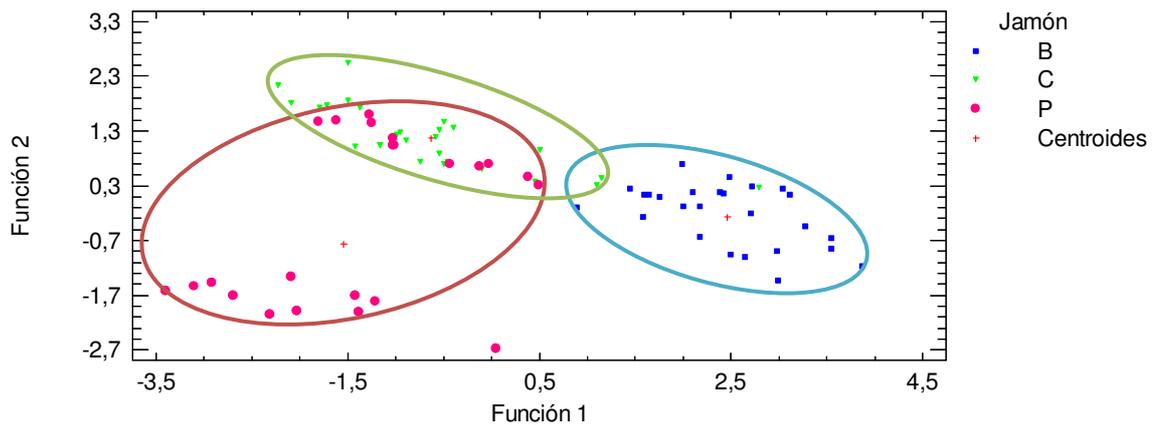
**FIGURA 4.** Análisis discriminante para el electrodo punta de flecha en matriz líquida (B: jamón hinchado, C: jamón con cala, P: jamón sin alteración).

Como se puede observar en dicha figura existe solapamiento en el caso de los jamones alterados con cala y los jamones patrón, diferenciándose estos de los jamones hinchados. Además, se aprecia una cierta dispersión de los puntos, que podría deberse a que las medidas de impedancia estarían afectadas por la posición de los electrodos, la generación de vórtices y el calentamiento de la muestra debida a la agitación (Chanet et al., 1999).

En el caso de las medidas realizadas en medio sólido los resultados obtenidos (TABLA 3) muestran que los electrodos AC y el ED fueron los que mejor discriminaron los distintos tipos de jamón, con un 82,56% y un 84,71% de casos correctamente clasificados respectivamente. Al analizar las figuras obtenidas para el análisis discriminante (FIGURAS 5 y 6).



**FIGURA 5.** Análisis discriminante para el electrodo doble en matriz sólida (B: jamón hinchado, C: jamón con cala, P: jamón sin alteración).



**FIGURA 6.** Análisis discriminante para el electrodo aguja coaxial en matriz sólida (B: jamón hinchado, C: jamón con cala, P: jamón sin alteración).

Como se puede observar en dichas figuras, al igual que en medio líquido, existe un solapamiento de las medidas correspondientes a los jamones con cala y patrón. Por lo contrario, las muestras correspondientes a los jamones hinchados sí que se diferencian de las anteriores. Las diferencias que se observan en las gráficas de funciones discriminantes para estos dos electrodos podrían deberse a su diseño (Chanet, 1999).

Comparando los resultados obtenidos en medio líquido y sólido se observó una mayor discriminación entre tipos de jamón cuando las medidas de impedancia se realizaron en matriz sólida, exceptuando el electrodo PF, con el que el porcentaje de casos correctamente clasificados fue mayor en medio líquido, con un 73,75% frente al 66,67%.

Con la finalidad de correlacionar los datos fisicoquímicos y microbiológicos con las medidas de impedancia, tanto en medio sólido como en líquido, se realizaron Análisis de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS), en los que se incluyeron los resultados promediados de los análisis microbiológicos y fisicoquímicos (TABLA 4).

Los resultados obtenidos de la regresión se representan mediante los  $R^2CV$  ( $R^2$  de validación cruzada), componentes extraídos y RMSECV (error cuadrático medio de la validación cruzada). En general, se observó una mayor correlación entre las medidas de impedancia realizadas en medio sólido y los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos que cuando las determinaciones se realizaron sobre matriz líquida. Sólo en el caso de las bacterias ácido lácticas la predicción obtenida con la AC en medio líquido fue superior a la observada en medio sólido.

De los tres electrodos testados, la AC fue la que mostró mejor correlación con los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, excepto en el caso de las enterobacterias y los cloruros en los que los mejores resultados se obtuvieron con el ED.

Las mejores correlaciones entre los valores de impedancia y parámetros fisicoquímicos se dieron con el contenido en sal y  $A_w$ . En el caso de la concentración de cloruros con  $R^2$  de 65.6 y 66.3 para los electrodos AC y ED, respectivamente. Mientras, que para  $A_w$  el electrodo que mejor  $R^2$  mostró fue el AC ( $R^2=57.27$ ). Respecto a los parámetros microbiológicos, las medidas de impedancia mostraron la mejor correlación con aerobios mesófilos y cuando se utilizó la AC ( $R^2=63.64$ ) seguido de micrococáceas y mohos y levaduras.

En vista a los resultados mostrados en la TABLA 4, ninguna de las variables estudiadas posee una correlación lo suficientemente alta para afirmar que es determinante en la respuesta obtenida en las medidas de impedancia.

**TABLA 4.** Análisis de regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) para impedancia.

	MEDIO LÍQUIDO			MEDIO SÓLIDO			PARÁMETRO
	AC	ED	PF	AC	ED	PF	
Aerobios mesófilos	6	5	4	6	4	6	componentes extraídos
	59,08	40,1	60,47	*63,64	53,78	20,92	**R <sup>2</sup> CV
	0,57	0,70	0,58	0,57	0,63	0,82	***RMSECV
Bacterias ácido lácticas	6	5	4	6	4	6	componentes extraídos
	48,33	30,11	37,47	39,44	34,37	6,76	R <sup>2</sup> CV
	0,97	1,04	0,89	0,98	1,02	1,13	RMSECV
Enterobacterias	6	5	4	6	4	6	componentes extraídos
	15,01	13,88	22,82	9,78	33,11	2,59	R <sup>2</sup> CV
	0,56	0,59	0,59	0,62	0,51	0,63	RMSECV
Halotolerantes	6	5	4	6	4	6	componentes extraídos
	34,59	20,73	28,87	36,66	32,19	17,91	R <sup>2</sup> CV
	0,44	0,47	0,43	0,42	0,43	0,46	RMSECV
Micrococáceas	6	5	4	6	4	6	componentes extraídos
	41,21	22,08	25,63	47,18	21,53	6,61	R <sup>2</sup> CV
	1,21	1,24	1,09	1,06	1,25	1,27	RMSECV
Mohos y levaduras	6	5	4	6	4	6	componentes extraídos
	48,82	36,02	46,98	49,18	47,54	23,83	R <sup>2</sup> CV
	0,39	0,43	0,39	0,37	0,39	0,48	RMSECV
Aw	6	5	4	6	4	6	componentes extraídos
	53,64	36,41	47,12	57,27	39,24	11,7	R <sup>2</sup> CV
	0,0036	0,0039	0,0034	0,0033	0,0039	0,004	RMSECV
pH	6	5	4	6	4	6	componentes extraídos
	23,49	22,86	21,56	30,41	26,62	8,75	R <sup>2</sup> CV
	0,058	0,058	0,058	0,055	0,056	0,06	RMSECV
Cloruros	6	5	4	6	4	6	componentes extraídos
	51,39	35,81	58,63	65,6	66,3	16,54	R <sup>2</sup> CV
	0,0044	0,0055	0,0048	0,0041	0,0040	0,0062	RMSECV
Humedad	6	5	4	6	4	6	componentes extraídos
	1,19	10,31	1,48	0	10,13	0	R <sup>2</sup> CV
	0,0272	0,0294	0,0272	0,0296	0,0262	0,0299	RMSECV

\*Los números en color rojo indican el mayor porcentaje de correlación para R<sup>2</sup> CV.

\*\*R<sup>2</sup> CV: R<sup>2</sup> de validación cruzada.

\*\*\*RMSECV: error cuadrático medio de la validación cruzada.

## Potenciometría

Al igual que para la espectroscopía de impedancia las medidas potenciométricas se realizaron en medio líquido (sobre el filtrado obtenido para la detección de cloruros) y en la matriz sólida (directamente en la muestra de jamón).

El análisis de los datos se realizó empleando las medidas obtenidas con los tres diferentes electrodos por separado y en conjunto, consiguiéndose los mejores resultados con esta última configuración (resultados no mostrados con los electrodos por separado).

Los resultados (TABLA 5) muestran que los mayores porcentajes de varianza total capturada se dieron para las muestras líquidas.

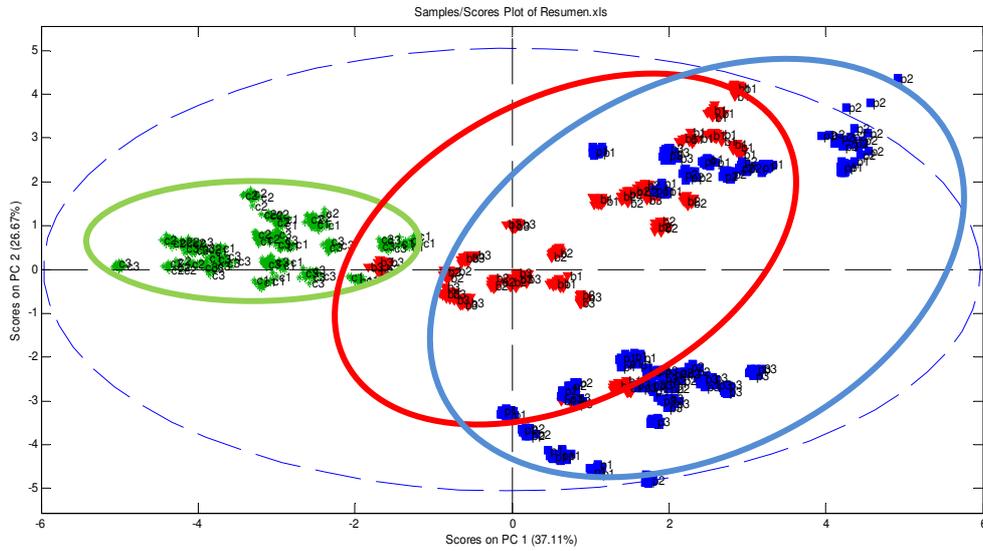
**TABLA 5.** Análisis de componentes principales para potenciometría

Número de Componentes Principales	Eigenvalor	% Varianza Capturada en cada Componente Principal	% Varianza Total Capturada
<b><u>Matriz líquida</u></b>			
1	5.97	37.33	37.33
2	4.27	26.67	<b>64.00</b>
<b><u>Matriz sólida</u></b>			
1	4.05	25.29	25.29
2	3.11	19.45	<b>44.75</b>

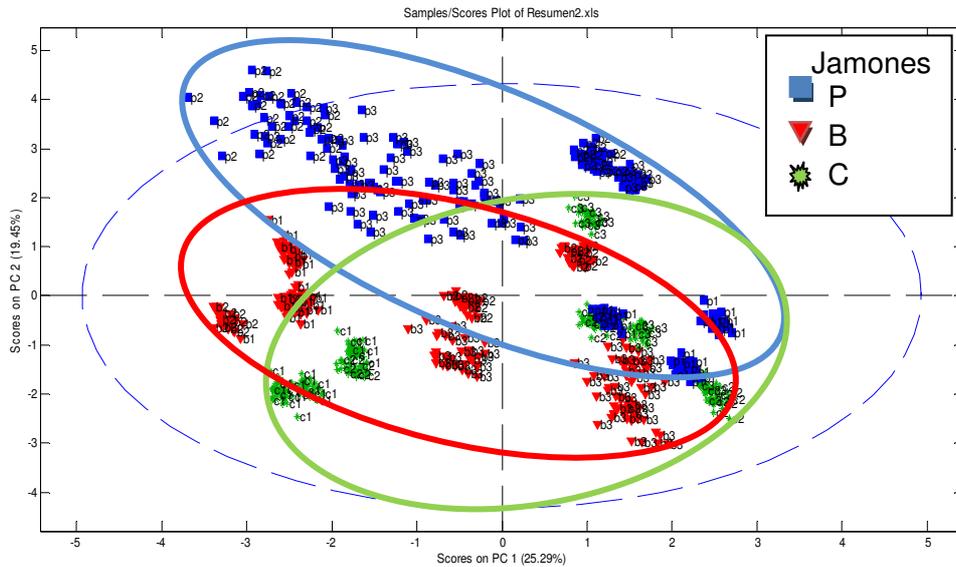
Cuando la determinación se efectuó en medio líquido (FIGURA 7) se observó un solapamiento en los valores correspondientes a los jamones P y B, mientras que los jamones C si que se diferenciaron de los anteriores. Esta distribución difiere de la observada en el caso de las medidas de impedancia en donde el solapamiento ocurría entre los jamones P y C. Por lo tanto la distribución observada para las medidas de impedancia estaría más acorde con los valores obtenidos para los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos.

Las medidas potenciométricas obtenidas en medio sólido (FIGURA 8) no muestran una tendencia a agruparse en cuanto al tipo de jamón analizado. No obstante, sí que se observa agrupaciones correspondientes a las distintas repeticiones de una misma muestra.

Con la finalidad de correlacionar los datos fisicoquímicos y microbiológicos con las medidas potenciométricas, tanto en medio sólido como líquido, se realizaron Análisis de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS), en los que se incluyeron los resultados promediados de los análisis microbiológicos y fisicoquímicos (TABLA 6).



**FIGURA 7.** Gráfica de PCA para potenciometría en matriz líquida (P: jamón sin alteración, B: jamón hinchado, C: jamón con cala)



**FIGURA 8.** Gráfica de PCA para potenciometría en matriz sólida (P: jamón sin alteración, B: jamón hinchado, C: jamón con cala).

**TABLA 6.** Análisis de regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) para potenciometría

	Medio sólido			Medio líquido		
	*LV	**RMSECV	***R <sup>2</sup> CV	LV	RMSECV	R <sup>2</sup> CV
<b>Aerobios mesófilos</b>	4	0,8223	<b>59,89</b>	7	1,0932	38,20
<b>Bacterias ácido lácticas</b>	6	1,2029	<b>48,90</b>	5	1,4202	31,90
<b>Enterobacterias</b>	5	1,0254	<b>55,09</b>	5	1,1607	35,91
<b>Micrococáceas</b>	4	1,3606	<b>56,32</b>	4	1,2623	53,26
<b>Halotolerantes</b>	5	0,7397	<b>43,84</b>	4	0,9261	30,29
<b>Mohos y levaduras</b>	5	0,6266	<b>48,71</b>	4	0,6869	38,87
<b>Aw</b>	4	0,0039	<b>67,77</b>	6	0,0973	15,20
<b>pH</b>	4	0,0659	<b>57,17</b>	6	0,6211	16,10
<b>Cloruros</b>	5	0,0057	<b>55,22</b>	8	0,0079	40,50
<b>Humedad</b>	3	0,0270	<b>47,68</b>	6	0,0563	15,40

\*LV: variables latentes

\*\*RMSECV: error cuadrático medio de la validación cruzada

\*\*\*R<sup>2</sup> CV: R<sup>2</sup> de la validación cruzada

Los números en negrita indican el mayor R<sup>2</sup> CV obtenido para cada parámetro

Los resultados obtenidos muestran que la mejor correlación entre las medidas potenciométricas y los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos se obtenía cuando estas se realizaban en medio sólido.

El parámetro fisicoquímico que mejor se correlacionó con la potenciometría fue la Aw. Mientras que respecto a las determinaciones microbiológicas, las mejores correlaciones se obtuvieron para los aerobios mesófilos seguidos de las micrococáceas.

## CONCLUSIONES

- Los análisis discriminantes indican una mejor capacidad de discriminación entre jamones en base a las medidas de impedancia. Puesto que estas permiten diferenciar los jamones hinchados respecto a los no alterados y los sometidos a cala. Además, esta discriminación es acorde a los valores obtenidos para los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos. En el caso de la potenciometría no se observa una discriminación acorde a dichos parámetros.
- En la espectroscopia de impedancia, las medidas realizadas directamente sobre las muestras sólidas permiten una mejor discriminación que las realizadas sobre el extracto acuoso. Siendo el sensor de elección el electrodo doble.
- Al correlacionar las medidas de impedancia y potenciometría con los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, los resultados obtenidos

indican que ninguno de estos parámetros, por sí mismo, es capaz de explicar las variaciones observadas en las medidas realizadas con estas dos técnicas. No obstante, la cantidad de sal, el nivel de actividad de agua y los recuentos totales (aerobios mesófilos) son los parámetros que mejor correlación presentan.

## BIBLIOGRAFÍA

- Altmann, M., Pliquet, U., Suess, R., Von Borell, E. "Prediction of carcass composition by impedance spectroscopy in lambs of similar weight." Meat Science (2005): 70: 319-327.
- Arnau, J., Hugas, M. "Jamón Curado: Aspectos Técnicos." J. Arnau, M. Hugas, J.M Monfort. Defectos en el jamón curado. Vol. 1. Barcelona: IRTA, 1987.
- Arnau, J., I. Diaz, M., Hugas, J.A., García-Guerreiro, Monfort, M. "I.P.V.S." 9º Congreso Barcelona (1986).
- Carrascosa, A. V., Arnau, J., Boadas, C., Cornejo, I. "Alteración del jamón por *Serratia Liquefaciens* IFI-SL65." Eurocarne (1997): 60: 1-5.
- Chanet, M., Rivière, C., Eynard, P. "Electric impedance spectrometry for the control of manufacturing process of comminuted meat products." Journal of Food Engineering (1999): 42: 153-159.
- Ciosek, P., Augustyniak, E., Wróblewski, W. "Polymeric membrane ion-selective and cross-sensitive electrode-based electronic tongue for qualitative analysis of beverages." Analyst (2004): 129: 639-644.
- Cordero, M.R., Zumalacárregui, J.M. "Characterization of Micrococcaceae isolated from salt used for Spanish dry-cured ham." Letters in Applied Microbiology (2000): 31: 303-306.
- Córdoba, J.J., Aranda, E., Benito, M. "Alteraciones originadas por microorganismos, ácaros e insectos." Córdoba, J.J., Aranda, E., Benito, M. Tecnología del Jamón Ibérico. Multi-Prensa, 2001. 469-486.
- Daza, A., Mateos, A., Ovejero, I., López Bote, C.J. "Prediction of body composition of iberian pigs by means bioelectrical impedance." Meat Science (2006): 72: 43-46.
- Deisingh, A.K., Stone, D.C., Thompson, M. "Application of electronic noses and tongues in food analysis." International Journal of Food Science and Technology (2004): 39: 587-604.
- Gallardo, J., Alegret, S., & del Valle, M. "Application of a potentiometric electronic tongue as a classification tool in food analysis." Talanta (2005): 66: 1303-1309.
- García, C., Martín, A., Timón, M. L., & Córdoba, J. J. "Microbial populations and volatile compounds in the "bone taint" spoilage of dry cured ham." Letters in Applied Microbiology (2000): 30: 61-66.
- Gil, L., Barat, J.M., Baigts, D., Martínez-Máñez, R., Soto, J., García-Breijo, E., Aristoy, M.C., Toldrá, F., Llobet, E. "Monitoring of physical-chemical and microbiological changes in fresh pork meat under cold storage by means of a potentiometric electronic tongue." Food Chemistry (2011): 126: 1261-1268.
- Gil, L., Barat, J.M., García-Breijo, E., Ibáñez, J., Martínez-Máñez, R., Soto, J., Llobet, E., Brezmes, J., Aristoy, M.C., Toldrá, F. "Fish freshness analysis using metallic potentiometric electrodes." Sensors and Actuators B (2008): 131: 362-370.
- Giolitti, G., Cantoni, C., Bianchi, M.A., Renon, P. Journal of Applied Bacteriology (1971): 34: 51-61.
- Hayashi, T., Todoriki, S., Otake, K., Sugiyama, J. "Impedance measuring technique for identifying irradiated potatoes." Bioscience Biotechnology Biochemistry (1992): 56: 1929-1932.
- Hechelmann, H., Lücke, F.k., Leistner, L. Mitteilungsbl, BAFF (1988): 68: 4059-4064.
- ISO 15214/1998 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria - Colony-count technique at 30°C.
- ISO 21528-2/2004 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* - Part 2: Colony-count method.

- ISO 7954/1987 - General guidance for enumeration of yeasts and moulds -Colony count technique at 25°C.
- ISO R-1442/1973- Meat and meat products: Determination of moisture content
- Jesús De Barros, C.A., Pagán Moreno, M.J., Barat Baviera, J.M., Fuentes López, A., Alcañiz Fillol, M., Masot Peris, R. "Aplicación a la espectrometría de impedancias para la determinación de la calidad higiénica de productos cárnicos." (2009).
- Jones, D. "Composition and properties of the family Enterobacteriaceae." Lund, B.M., Sussman, M., Jones, D., Stringer, M.F. Enterobacteriaceae in the Environment and as Pathogens. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1988. 1-19.
- Kaneki, N., Miura, T., Shimada, K., Tanaka, H., Ito, S., Hotori, K., Akasaka, S., Ohkubo, S., Asano, Y. "Measurement of pork freshness using potentiometric sensor". Elsevier-Talanta (2004): 62: 217-221.
- Kemp, J.D., Abidoye, D.C.O., Langlois B.E., Franklin, J.B., Fox, J.D. "Effect of curing ingredients, skinning and boning on yield quality and microflora of country hams." Journal of Food Science (1980): 45: 174-177.
- Kemp, J.D., Abidoye, D.C.O., Langlois, B.E., Franklin, J.B., Fox, J.D.,. (n.d.).
- Kent, M., Anderson, D. "Dielectric studies of added water in poultry meat and scallops." Journal of Food Engineering (1996): 28: 239-259.
- Kuri, V., Madden, R.H., Collins, M.A. "Hygienic quality of raw pork and chorizo (raw pork sausage) on retail sale in Mexico City." Journal of Food Protection (1996): 59: 141-145.
- Lenges, J. Belgian Food Chemistry and Biotechnology (1986): 41: 87-93.
- Losantos, A., Sanabria, C., Cornejo, I., Carrascosa, A.V. "Characterization of Enterobacteriaceae strains isolated from spoiled dry-cured hams." Food microbiology (2000): 17: 505-512.
- Marín M. E., Cornejo I., Carrascosa A. V.,. Eurocarne (1993): 20:23-25.
- Marín, M. E., de la Rosa, M. C., Carrascosa, A. V., Cornejo, I. "Microbiological and physico-chemical aspects of spoiled dry-cured spanish hams." Fleischwirtschaft (1992): 72 (11): 1553-1557.
- Marín, M.E., Carrascosa, A.V., Cornejo, I. "Characterization of Enterobacteriaceae strains isolated during industrial processing of dry-cured hams." Food Microbiology (1996): 13: 375-381.
- Martín, A., Benito, M.J., Hernández, A., Pérez-Navado, F., Córdoba, J.J., Córdoba, M.G. "Characterisation of microbial deep spoilage in Iberian dry-cured ham." Meat Science (2008): 78: 475-484.
- Monin, G., Marinova, P., Talmant, A., Martín, J.F., Cornet, M., Lanore, D., Grasso, F. "Chemical and structural changes in dry-cured hams (Bayonne hams) during processing and effects of the dehairing technique." Meat science (1997): 47: 29-47.
- Núñez, F., Rodríguez, M.M., Córdoba J.J., Bermúdez, M.E., Asensio, M.A. "Yeast populations during ripening of dry cured Iberian ham." International Journal of Food Microbiology (1996): 29: 271-280.
- Pliquett, U., Altmann, M., Pliquett, F., Schöberleind, L. "Py- a parameter for meat quality." Meat Science (2003): 65: 1429-1437.
- Poma, J.P. V.P.C (1987): 8: 109-111.
- Pravdová, V., Pravda, M., Guibault, G.G. "Analytical Letters." (2002): vol 35, nº15: 2389-2419.
- Ramírez, N.; Regueiro, A.; Arias, O.; Contreras, R. "Espectroscopía de impedancia electroquímica, herramienta eficaz para el diagnostico rápido microbiológico". "Biotecnología Aplicada" (2009): 26:65-71.
- Rodríguez, M., Núñez, F., Córdoba, J.J., Bermúdez, M.E., Asensio, M.A. "Evaluation of proteolytic activity of microorganisms isolated from dry cured ham." Journal of Applied Microbiology (1998): 85: 905-912.
- Rodríguez, M., Núñez, F., Córdoba, J.J., Sanabria, C., Bermúdez, E., & Asensio, M.A. "Characterization of Staphylococcus spp. and Micrococcus spp. isolated from Iberian ham throughout the ripening process." International Journal of Food Microbiology (1994): 24: 329-335.
- Serway, R., Beichner, R. "Física para Ciencias e Ingeniería." Serway, R., Beichner, R. Física para Ciencias e Ingeniería. Mc.Graw-Hill, 2002. Tomo 2.
- Simonetti, P., Bersani, C., D'Aubert, S., Cantoni, C. Ind. Aliment (1983): 204: 271-273.

Soto, J., Labrador, R.H., Marcos, M.D., Martínez-Máñez, R., Coll, C., García-Breijo, E., et al. "Introduction of a model for describing the redox potential in faradic electrodes." Journal of Electroanalytical Chemistry (2006): 594: 96-104.

Toko, K. "Biometric sensor technology." Cambridge university Press (2000).

Tomlinson, I.A. Food and Drug Administration: bacteriological analytical manual. AOAC International, 1995.

Torsten Paarup, Juan Carlos Nieto, Carmen Peláez, Juan Ignacio Reguera. Eur Food Res Technol (1999): 209: 366-371.

UNE-EN ISO 4833 - Microbiología de alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Técnica de recuento de colonias a 30°C.

Zeller, M., Renz, H. Fleischwirtsch (1967): 47: 825-828.