

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

USO DE SENSORES
ELECTRÓNICOS PARA LA
OPTIMIZACIÓN Y CONTROL DEL
PROCESO DE ELABORACIÓN DEL
JAMÓN CURADO

TESIS DOCTORAL

Lunier Joel Girón Hernández

16/07/2014

Directores académicos:

José M. Barat Baviera

Raúl Grau Meló

Mi franco agradecimiento a Raúl Grau Meló y José Manuel Barat Baviera por haber guiado el desarrollo de esta tesis doctoral con paciencia, sabiduría y generoso magisterio.

Y, ¡cómo no!, a todas las personas que me han acompañado académica y afectivamente a disfrutar del desarrollo de mi tesis y de estos enriquecedores y felices años en España. De todos ellos he aprendido que cada momento en la vida es único y, por tanto, hay que vivirlos con intensidad.

A mi familia, por estar siempre conmigo. En España y en Colombia.
Adsum etiamsi absum.

“Es un bocado propio de bienaventurados”

Camilo José Cela (*Elogio al jamón*)

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Índice de Figuras	5
Índice de Tablas	9
Resumen	11
Abstract	13
Resum	15
1. Introducción	17
1.1. RELEVANCIA DEL JAMÓN CURADO	17
1.2. CONTROL DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL JAMÓN CURADO	19
1.2.1. SELECCIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LA MATERIA PRIMA	23
1.2.2. SALADO	24
1.2.3. POST-SALADO	26
1.2.4. SECADO-MADURACIÓN	27
1.3. AVANCES EN EL ANÁLISIS DE JAMÓN CURADO. NUEVOS MÉTODOS DE ANÁLISIS DE POSIBLE APLICACIÓN AL SECTOR DEL JAMÓN CURADO	30
1.3.1. ESPECTROMETRÍA NIR	31
1.3.2. TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA	33
1.3.3. RESONANCIA MAGNÉTICA	34
1.3.4. ULTRASONIDOS	37
1.3.5. NARIZ ELECTRÓNICA	38
1.3.6. LENGUAS ELECTRÓNICAS	39
El concepto de la lengua electrónica	40
Potenciometría	41
Tipos de electrodos	43

1.3.7.	VOLTAMETRÍA _____	45
1.3.8.	ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA _____	46
1.4.	PROCESAMIENTO DE DATOS _____	48
1.4.1.	ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA) _____	48
1.4.2.	REGRESIÓN POR MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES (PLS) _____	49
1.4.3.	ANÁLISIS DISCRIMINANTE POR MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES (PLS-DA) _____	50
1.5.	JUSTIFICACIÓN _____	51
2.	Objetivo _____	53
2.1.	OBJETIVO GENERAL _____	53
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS _____	53
3.	Materiales y métodos _____	54
3.1.	PLAN DE TRABAJO _____	55
3.2.	MATERIA PRIMA Y ANÁLISIS REALIZADOS _____	56
3.3.	CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE SALADO EN BANDEJA REALIZADO POR LA EMPRESA COLABORADORA _____	57
3.3.1.	CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO PROCESADO POR LA EMPRESA COLABORADORA (PRODUCTO CURADO) _____	57
3.3.2.	CARACTERIZACIÓN DEL SALADO EN BANDEJA _____	57
3.4.	ESTUDIO DE LA VIABILIDAD DE SENSORES ELECTRÓNICOS EN EL PROCESADO DE JAMÓN CURADO _____	60
3.4.1.	ESTUDIO DE LA VIABILIDAD DE SENSORES ELECTRÓNICOS PARA LA DIFERENCIACIÓN DE DISTINTOS TIPOS DE MATERIAS PRIMAS _____	60
3.4.2.	ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE LOS SENSORES ELECTRÓNICOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LOS JAMONES DURANTE LA ETAPA DE POST-SALADO _____	60

3.4.3.	EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE LOS SENSORES ELECTRÓNICOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LOS JAMONES CURADOS	62
3.4.4.	EVALUACIÓN DE JAMONES CURADOS	62
3.4.5.	EVALUACIÓN DE JAMONES CURADOS CON PROBLEMAS HIGIÉNICO SANITARIOS	63
	Determinaciones analíticas	64
	Determinaciones Físicoquímicas	64
	Determinaciones microbiológicas	68
	Determinaciones Electrónicas	70
3.5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	77
4.	Resultados y discusión	79
4.1.	CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE SALADO EN BANDEJA REALIZADO POR LA EMPRESA COLABORADORA	79
4.1.1.	CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO PROCESADO POR LA EMPRESA COLABORADORA (PRODUCTO CURADO)	79
4.1.2.	CARACTERIZACIÓN DEL SALADO EN BANDEJA	80
4.2.	ESTUDIO DE LA VIABILIDAD DE SENSORES ELECTRÓNICOS EN EL PROCESADO DEL JAMÓN CURADO	84
4.2.1.	ESTUDIO DE LA VIABILIDAD DE SENSORES ELECTRÓNICOS PARA LA DIFERENCIACIÓN DE DISTINTOS TIPOS DE MATERIA PRIMA	84
4.2.2.	ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA	85
4.2.3.	POTENCIOMETRÍA	96
4.2.4.	VOLTAMETRÍA	103
4.2.5.	CONCLUSIONES (CONCLUSIONS)	107
4.3.	ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE LOS SENSORES ELECTRÓNICOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LAS PIEZAS DURANTE LA ETAPA DE POST-SALADO	110

4.3.1.	CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA	111
	Variación de masa ($\Delta M^{\circ}_{\text{post-salado}}$)	111
	Determinación de la razón másica de grasa (X^G b.s. s.g)	112
	Determinación de la razón másica de agua (X^w b.h.)	115
	Determinación de la razón másica de sal en base seca sin grasa (X^{NaCl} b.s. s.g.)	117
	Determinación de la concentración de sal en fase líquida (Z^{NaCl})	119
	Determinación de la actividad de agua (a_w)	122
4.3.2.	CARACTERIZACIONES ELECTRÓNICAS	124
	Espectroscopia de impedancia	124
	Potenciometría	128
4.3.3.	CONCLUSIONES (CONCLUSIONS)	132

4.4. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE LOS SENSORES ELECTRÓNICOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO FINAL, JAMÓN CURADO

4.4.1.	EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS APLICANDO LA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA	134
4.4.2.	CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA	135
	Determinación de la razón másica de agua (X^w b.s.)	135
	Determinación de la razón másica de sal en base seca sin grasa (X^{NaCl} b.s. s.g.)	136
	Determinación de la actividad de agua (a_w)	138
4.4.3.	CARACTERIZACIÓN ELECTRÓNICA DE LAS MUESTRAS APLICANDO LA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA	140
4.4.4.	EVALUACION ELECTRÓNICA DE JAMONES CURADOS CON PROBLEMAS HIGIENICO SANITARIOS APLICANDO LA TÉCNICA DE POTENCIOMETRÍA	146
	Caracterización fisicoquímica	146
	Caracterización microbiológica	147
	Análisis de la señal electrónica (potenciometría)	149
4.4.5.	CONCLUSIONES (CONCLUSIONS)	154

5. Conclusiones (conclusions)	156
6. Bibliografía	159

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución de la producción de piezas curadas de cerdo blanco (Cruz, 2013).	19
Figura 2. Instrumento “cala”.	29
Figura 3. Sonda de medición remota. Adquisición espectral sobre el músculo gracilis. (Collell et al., 2011).	32
Figura 4. A= Imagen CT (tomograma) de la sección transversal de un pernil salado. B= localización de la muestra. (Fulladosa et al, 2010).	34
Figura 5. Procesamiento de las imágenes (MRI). A= imagen original; B= imagen filtrada; C= contorno de la imagen; D= imagen del campo de potencial (Antequera et al., 2007).	35
Figura 6. Secuencias MRI de tres perniles ibéricos de cerdos engordados con dietas a base de hierba y bellotas (a, b y c) y piensos con alta concentración de ácido oleico (d, e y f). (Pérez-Palacios et al., 2011).	36
Figura 7. Medida con ultrasonidos. A= Método sobre canales de cerdo. B= Imagen en paleta de cerdo M. Longissimus. (Mörlein et al., 2005).	38
Figura 8. Sistema de nariz electrónica. U1: módulo de adquisición de datos; U2: cámara de sensores; U3: suministro de gas y electricidad. (Adaptado de Guohua et al., 2012).	39
Figura 9. Lengua electrónica. (Alcañiz, 2011).	41
Figura 10. Plan de trabajo.	56
Figura 11. Zonas de análisis en las lonchas extraídas de las piezas.	61
Figura 12. Equipo de espectroscopia de impedancia (izquierda) y sonda de electrodo doble (derecha).	71
Figura 13. Equipo potenciométrico (izquierda), multielectrodo con forma de “cala” (centro), multielectrodo en forma de corona (derecha).	72
Figura 14. Obtención de medidas potenciométricas sobre jamón curado.	74
Figura 15. Equipo voltamétrico (izquierda) y multielectrodo (derecha).	75
Figura 16. Obtención de medidas voltamétricas sobre pernil de cerdo.	75

Figura 17. Sal en base seca sin grasa (X_{NaCl} b.s. s.g.) en función del tiempo de salado 12, 16, 20 y 25 días, para las tres materias primas en estudio. Valores promedio y barras de desviación estándar.	84
Figura 18. Media de las frecuencias seleccionadas, módulo (izquierda) y fase (derecha) de la señal de impedancia para las muestras evaluadas.	86
Figura 19. Media de las frecuencias seleccionadas de la señal de módulo de impedancia para las muestras evaluadas.....	87
Figura 20. Media de las frecuencias seleccionadas de la señal de fase de impedancia para las muestras evaluadas.....	88
Figura 21. Análisis de componentes principales (PCA) para módulo y fase de los valores de impedancia.....	90
Figura 22. Análisis de componentes principales (PCA) para el módulo de los valores de impedancia.....	91
Figura 23. Análisis de componentes principales (PCA) para la fase de los valores de impedancia.	92
Figura 24. Resultados del análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para la totalidad de la señal de espectroscopia de impedancia.	94
Figura 25. Resultados del análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para las selecciones obtenidas por iPLSDA de los valores de módulo y fase de impedancia.	95
Figura 26. Señal de potenciometría obtenida para una muestra por el conjunto de electrodos. Metales nobles (izquierda), metales no nobles (derecha).	96
Figura 27. Promedio de las señales potenciométricas generadas por los electrodos de metales nobles y metales no nobles.	98
Figura 28. Análisis de componentes principales (PCA) para los valores potenciométricos de los metales nobles.....	99
Figura 29. Análisis de componentes principales (PCA) para los valores potenciométricos de los metales no nobles.	100
Figura 30. Resultados del análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para los valores de potenciometría de los metales nobles.	101

Figura 31. Resultados del análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para los valores de potenciometría de los metales no nobles.	102
Figura 32. Resultados del análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para los valores de potenciometría de los metales nobles y no nobles.	103
Figura 33. Señal voltamétrica obtenida para cada electrodo (Au, Ir, Pt y Rh) sobre la materia prima.	104
Figura 34. Análisis de componentes principales para las medidas de voltametría de pulsos (Au, Ir, Pt y Rh).	105
Figura 35. Resultados del análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para los valores de voltametría.	106
Figura 36. Resultados del análisis de PLS-DA con la selección de intervalos realizada con iPLSDA de los valores de voltametría de pulsos.	107
Figura 37. Variación de masa total ($\Delta Mt_0 = \Delta MMw + \Delta MNaCl$) a las 8, 10, 12 y 14 semanas de post-salado. Valores promedio \pm SD.	112
Figura 38. Grasa en base seca sin grasa (X^G b.s. s.g.) de la zona “R”. Valores promedio \pm SD.	114
Figura 39. Humedad en base húmeda (X^w b.h.) para las diferentes zonas de las muestras evaluadas a las 8, 10, 12 y 14 semanas de post salado. Valores promedio \pm SD.	116
Figura 40. Sal en base seca sin grasa (X^{NaCl} b.s. s.g.) para las diferentes zonas de las muestras evaluadas a las 8, 10, 12 y 14 semanas de post salado. Valores promedio \pm SD.	118
Figura 41. Valores de sal en fase líquida (Z^{NaCl}) para las categorías de las muestras evaluadas a las 8, 10, 12 y 14 semanas de post-salado.	120
Figura 42. Actividad de agua (a_w) para las diferentes zonas de las muestras evaluadas a las 8, 10, 12 y 14 semanas de post-salado. Valores promedio \pm SD.	123
Figura 43. Análisis de componentes principales para los valores del módulo y de la fase de espectroscopia de impedancia, ocho semanas (izquierda) y diez semanas (derecha) de post-salado.	125

Figura 44. Análisis de componentes principales para los valores de módulo y la fase de espectroscopia de impedancia, doce semanas (izquierda) y catorce semanas (derecha) de post-salado.	126
Figura 45. Valores predichos de humedad (izquierda) y actividad de agua (derecha) con selección de valores (iPLS) para las muestras a ocho y diez semanas de post-salado.	128
Figura 46. Análisis de componentes principales (PCA) para la información potenciométrica de los metales nobles.	129
Figura 47. Análisis de componentes principales (PCA) para la información potenciométrica de los metales no nobles.	130
Figura 48. Humedad en base húmeda (X^w b.h.) para las diferentes zonas de las muestras evaluadas de jamones curados. Valores promedio \pm SD.	135
Figura 49. Sal en base seca sin grasa (X^{NaCl} b.s. s.g.) para las diferentes zonas de las muestras evaluadas de jamones curados. Valores promedio \pm SD.	137
Figura 50. Actividad de agua (a_w) para las diferentes zonas de las muestras evaluadas de jamones curados. Valores promedio \pm SD.	139
Figura 51. PCA para los valores de módulo y fase de espectroscopia de impedancia en función de tipo de materia prima y zona de análisis.	141
Figura 52. Análisis de componentes principales para los valores de módulo y fase de espectroscopia de impedancia en función de las zonas de análisis.	142
Figura 53. Señal de impedancia para las tres categorías de jamones, valores de módulo (izquierda), valores de fase (derecha).	143
Figura 54. Señal de la fase de impedancia para cada zona de análisis, para cada una de las muestras evaluadas del grupo de jamones grasos.	144
Figura 55. Análisis de componentes principales (PCA) para las muestras evaluadas (jamones alterados y controles) y para la señal de potenciometría para cada electrodo.	149
Figura 56. Señales potenciométricas generadas en los electrodos plata (Ag), níquel (Ni) y cobre (Cu) presentes en la sonda.	150
Figura 57. Análisis conjunto con las variables fisicoquímicas y microbiológicas de scores y loadings para PC1 y PC2.	152

Figura 58. Resultados del análisis de PLS-DA para la clasificación mediante lecturas potenciométricas de jamones curados alterados.	153
--	-----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. El mercado de elaborados cárnicos en España.	18
Tabla 2. Distribución de las piezas por categoría y tiempo de salado.	59
Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos de las muestras de jamones curados. Valores promedios \pm SD de las tres categorías: magra, semigrasa y grasa.	79
Tabla 4. Determinaciones microbiológicas y pH de las muestras. Valores promedio \pm SD.	81
Tabla 5. Contenido de grasa para las distintas materias primas utilizadas por la empresa colaboradora, valores promedios \pm SD.	82
Tabla 6. Valores promedio \pm SD para las señales de módulo y fase de espectroscopia de impedancia para los rangos de frecuencias seleccionadas de las diferentes materias primas.	89
Tabla 7. Resumen para el análisis de componentes principales. Conjunto de valores para módulo y fase y valores por separado para el módulo y la fase.	93
Tabla 8. Resultados del ANOVA para los valores de potencial para cada uno de los electrodos (valores promedio \pm SD).	97
Tabla 9. Grasa en base seca sin grasa (X^G b.s. s.g.), para las zonas de análisis para la materia prima (grasa, magra y semigrasa), valores promedio \pm SD.	113
Tabla 10. ANOVA para la influencia del tiempo (A), tipo de materia prima (B), zona de muestreo (C) e interacciones sobre el contenido de humedad en base húmeda (X^w b.h.) durante el post-salado.	117
Tabla 11. ANOVA para la influencia del tiempo (A), tipo de materia prima (B), zona de muestreo (C) e interacciones sobre el contenido de sal (X^{NaCl} b.s. s.g.) durante el post-salado.	119
Tabla 12. ANOVA para la influencia del tiempo (A), tipo de materia prima (B), zona de muestreo (C) e interacciones sobre el contenido de sal (Z^{NaCl}) durante el post-salado.	121

Tabla 13. ANOVA para la influencia del tiempo (A), tipo de materia prima (B), zona de muestreo (C) e interacciones sobre la actividad de agua (a_w) durante el post-salado.....	124
Tabla 14. Resumen para el análisis de componentes principales. para ocho y diez semanas de post-salado con el conjunto de valores de módulo y fase, para las zonas de las materias primas.....	126
Tabla 15. Resultados del PLS para valores de espectroscopia de impedancia y los resultados de las determinaciones analíticas, para toda la señal y la selección de las frecuencias iPLS a ocho y diez semanas de post-salado.....	127
Tabla 16. Resumen para el análisis de componentes principales para la señal de potenciometría a los tiempos de post-salado.	131
Tabla 17. Resultados estadísticos para PLS realizado con los valores de potenciometría y los resultados de las determinaciones analíticas, para las zonas de la materia prima.	131
Tabla 18. ANOVA para la influencia del tipo de materia prima (A), zona de muestreo (B) y las interacciones entre los factores (A*B), sobre la humedad en base húmeda (X^w b.h.) en jamones curados.	136
Tabla 19. Influencia del tipo de materia prima (A), zona de muestreo (B) y las interacciones entre los factores (A*B), sobre la sal en base seca sin grasa (X^{NaCl} b.s. s.g.) en jamones curados.	137
Tabla 20. ANOVA para la influencia del tipo de materia prima (B), zona de muestreo (C) y las interacciones entre los factores (A*B), sobre la actividad de agua (a_w) en jamones curados.	139
Tabla 21. Influencia del tipo de materia prima (B), zona de muestreo (C) y las interacciones entre los factores (A*B), sobre la actividad de agua (a_w) en jamones curados.....	145
Tabla 22. Humedad en base húmeda (X^w b.h.) , grasa en base seca sin grasa (X^G b.s. s.g.), sal en base seca sin grasa (X^{NaCl} b.s. s.g.) y actividad de agua (a_w) para los jamones alterados y jamones patrón. Valores promedios \pm SD.	147
Tabla 23. Determinaciones microbiológicas para jamones alterados y jamones patrón. Valores promedios \pm SD.	148

RESUMEN

En las últimas décadas, el crecimiento de la población, así como la globalización, han llevado a una monopolización y por tanto a una producción a gran escala. En la industria alimentaria, esta dinámica de producción implica sistemas automatizados para generar constantemente alimentos de alta calidad.

Para lograr este objetivo, es necesario que las empresas tengan líneas bien desarrolladas de producción y un proceso de control de calidad eficaz que garanticen los mejores resultados y las hagan competitivas. Es por ello que son necesarias nuevas herramientas de inspección y control que garanticen la calidad de la totalidad de la producción generada, más aun cuando muchos de los procesos tradicionales de producción han tenido que ser adaptados a los nuevos estándares de producción.

Así en la presente tesis doctoral se pretende estudiar el uso de sensores electrónicos basados en las técnicas de espectroscopia de impedancia, potenciométrica y voltametría de pulsos para la optimización y control del proceso de elaboración del jamón curado.

Los resultados mostraron que la técnica de impedancia puede ser útil en el control de las etapas de elaboración dado que su respuesta está relacionada con los cambios fisicoquímicos generados en el producto durante su elaboración, aunque resulta necesario desarrollar una sonda que permita el análisis sin la necesidad de toma de muestra. La potenciometría, técnica en la que se dispone de una sonda de medida directa, permitió la discriminación entre jamones en buen estado de jamones alterados, obteniéndose una “cala” electrónica para el control de la totalidad de las piezas.

Se hacen necesarios nuevos estudios que permitan mejorar y confirmar los resultados encontrados en la presente tesis doctoral para desarrollar equipos que puedan ser adaptados al proceso de la industria productora de jamones curados.

ABSTRACT

In recent decades, population growth and globalization, have led to monopolization and therefore a large-scale production. In the food industry, the dynamics of production involves automated systems to produce consistently high-quality food.

To achieve this goal, it is mandatory for companies to have well developed production lines and an effective control process and quality control that ensure they get the best result and it makes them competitive. That is why new inspection and monitoring tools are needed in order to guarantee the quality, especially when many of the traditional manufacturing processes have been adapted to new production standards.

This thesis is aimed to evaluate the performance of electronic sensors based on techniques of impedance spectroscopy, potentiometry and pulse voltammetry for controlling and optimizing the production process of dry cured ham.

The results showed that the impedance technique can be useful for controlling the different steps of the process; its responses are related to the physicochemical changes generated in the product during processing, although it is necessary to develop a probe that allows the analysis without destructive sampling. Potentiometry technique which provides a direct measurement probe, allowed the discrimination between good and altered hams, resulting in an electronic sensor to control all the pieces during the production.

Despite the performance of the sensors, it is necessary to increase the research in this area to improve the obtained results. In order to develop

a sensor for the ham manufacturing process that helps in the control of the process and guarantees the acceptance of the consumers.

RESUM

En les últimes dècades, el creixement de la població, així com la globalització, han portat a una monopolització i per tant a una producció a gran escala de productes. En la indústria alimentària, aquesta dinàmica de producció implica sistemes automatitzats per produir constantment aliments d'alta qualitat. Per aconseguir aquest objectiu, cal que les empreses tinguin línies ben desenvolupades de producció i un procés de control de qualitat eficaç que garanteixen els millors resultats i les facen competitives.

És per això, que calen noves eines d'inspecció i control que assegurin la qualitat de la totalitat de la producció generada, encara més quan molts dels processos tradicionals de producció han hagut de ser adaptats als nous estàndards de producció.

Així, en la present tesi doctoral es pretén estudiar l'ús de sensors electrònics basats en les tècniques d'espectroscòpia d'impedància, potenciometria i voltametria de polsos per a l'optimització i control del procés d'elaboració de pernil curat.

Els resultats van mostrar que la tècnica d'impedància pot ser útil en el control de les etapes d'elaboració atès que la seua resposta està relacionada amb els canvis fisicoquímics generats en el producte durant la seua elaboració. A pesar d'aquest fet, seria

necessari desenvolupar una sonda que permeti l'anàlisi sense la necessitat de prendre una mostra. La potenciometria, tècnica en què es disposa d'una sonda de mesura directa, va permetre la discriminació entre pernils en bon estat de pernils alterats, obtenint-se una "cala" electrònica per al control de la totalitat de les peces.

Es fan necessaris nous estudis que permeten millorar i confirmar els resultats trobats en la present tesi doctoral per desenvolupar equips que puguin ser adaptats al procés de la indústria productora de pernils curats.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. RELEVANCIA DEL JAMÓN CURADO

España cuenta con una amplia gastronomía que desde la antigüedad se ha basado en la producción y transformación de los animales y vegetales propios de su geografía. Es así como se cuenta con una gran variedad de vinos, encurtidos y derivados animales que poco a poco se han posicionado dentro y fuera del país, convirtiéndose en un símbolo de la cultura española. Dentro de los productos alimenticios derivados de animales, sin duda alguna el alimento emblema es el jamón curado, el cual envuelve un trasfondo cultural y económico muy importante. Antiguamente, cuando el proceso de transformación se encontraba ligado a condiciones climáticas específicas, propias de las regiones típicamente productoras de jamón, las empresas jamoneras se localizaron en estas zonas rurales impulsando su actividad económica y fortaleciendo su tradición cultural.

En la actualidad la Industria Española de Alimentación y Bebidas cerró el año 2012 con unas ventas netas por valor de 86.298 millones de euros. Esta cifra equivale al 14% de las ventas netas del total de la industria y al 7,6% del PIB español, lo que la convierte en el primer sector industrial de la economía española y el quinto de Europa. Por subsectores, la industria cárnica, con un volumen en millones de euros de 19.149 de un total de 88.673, se situó en primer lugar, seguido por el de bebidas alcohólicas con un volumen total de 9.364 millones de euros [1]. Así, según el Ministerio de Agricultura, el consumo en hogares de elaborados cárnicos en 2012 se cifró en 4.701 millones de euros, siendo el valor de consumo de jamón curado del 31% [2]. Según la Asociación Nacional de Industrias de la Carne, en 2012, la producción de elaborados cárnicos fue de

1.301.000 toneladas, de las cuales 247.500 fueron de jamones y paletas curadas.

Las preferencias del consumidor español están encabezadas por los jamones curados, término que engloba de forma genérica tanto a los jamones de cerdo de raza blanca y a los jamones de cerdo de raza ibérica, los cuales representan alrededor de la quinta parte de los volúmenes comercializados en los diferentes canales de alimentación [3]. Y si el análisis se centra en el valor de estas cantidades vendidas, la cuota de mercado de los jamones curados se amplía mucho más, hasta representar más de un tercio de las ventas de derivados cárnicos (Tabla 1).

Tabla 1. El mercado de elaborados cárnicos en España.

Producto	% sobre volumen
Jamón curado	19,5
Yorks	16,9
Salchichas	14,0
Fiambres de ave	12,8
Chorizo curado	9,3
Fiambres	8,6
Fuet y longaniza	6,1
Salchichón y salami	3,5
Bacon	4,4
Patés y foie-gras	4,3
Sobrasada	0,6

Fuente: Nielsen (canales libre servicio y tradicional). Mercado controlado 487.100 tm TAM DE

Estos datos expresan la importancia del jamón curado en la industria alimentaria española. Durante los últimos años, y como consecuencia de la crisis económica, la industria del jamón ha sufrido una disminución en su producción. Desde el año 2008, de acuerdo con los datos facilitados por Confecarne, la producción de piezas curadas (paleta + jamón) elaboradas con perniles frescos de cerdo blanco se ha reducido

un 11%. Esta disminución se ha producido fundamentalmente dentro de la categoría de jamones curados, la más numerosa con el 86,5% del total de piezas curadas, que en ese mismo periodo de tiempo se contrajo casi un 14%, Figura 1. La categoría de paletas ha mantenido a lo largo de la última década su tendencia al crecimiento, destacando especialmente la subida entre el año 2010 y 2011, y mostrando cierto estancamiento en 2012. Su crecimiento se debería, en parte, a la bajada de precios que ha registrado este producto[2].

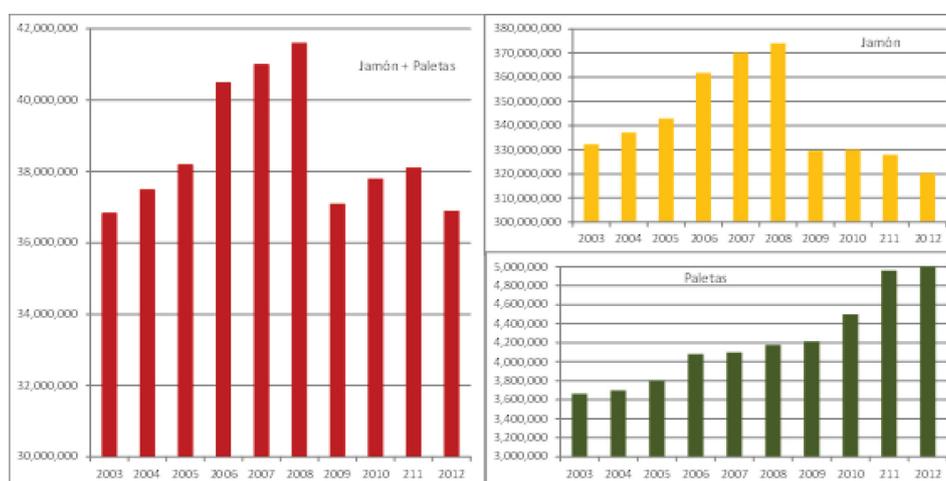


Figura 1. Evolución de la producción de piezas curadas de cerdo blanco (Cruz, 2013).

1.2. CONTROL DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL JAMÓN CURADO

Desde el punto de vista tecnológico, la elaboración del jamón curado es un proceso relativamente sencillo, pero que debe tener controles específicos que se dan en las diferentes etapas de su producción. Para asegurar un producto de excelente calidad es imprescindible un escrupuloso cuidado en la selección de la materia prima, el salado, el

post-salado, el curado y la evaluación de las piezas curadas al final del proceso.

Dada la heterogeneidad, conviene destacar que existen agrupaciones productoras de jamón que han logrado el aval y reconocimiento de la Unión Europea como: Denominación de Origen Protegida (DOP), Indicación Geográfica Protegida (IGP) o Especialidad Tradicional Garantizada (ETG), figuras Comunitarias de calidad que, respaldadas por un riguroso reglamento de elaboración y control, se aplican a ciertos productos agrícolas y alimenticios.

A nivel nacional, son los Consejos Reguladores los organismos encargados de la vigilancia y control del cumplimiento de las normas estipuladas por reglamento.

El caso de jamón curado la legislación vigente a la que se acoje la producción es la siguiente, a nivel europeo:

Reglamento 853/2004, de 29 de abril de 2004, del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal.

Reglamento 854/2004, de 29 de abril de 2004, del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se establecen normas específicas para la organización de controles oficiales de los productos de origen animal destinados al consumo humano.

Reglamento (CE) 2076/2005, de 5 de diciembre de 2005, por el que se establecen disposiciones transitorias para la aplicación de los Reglamentos (CE) n° 853/2004, (CE) n° 854/2004 y (CE) n° 882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo y se modifican los Reglamentos

(CE) nº 853/2004 y (CE) nº 854/2004 publicado en el DOCE L 338 DE 22. 12. 2005.

Reglamento (CE) 2073/2005, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, publicado en el DOCE L 338 DE 22. 12. 2005.

A nivel nacional la legislación vigente aplicable es la siguiente:

Real Decreto 640/2006, de 26 de mayo de 2006, por el que se regulan determinadas condiciones de aplicación de las disposiciones comunitarias en materia de higiene, de la producción y comercialización de los productos alimenticios. (B.O.E. 27. 05. 2006).

Directiva objeto de transposición Directiva 2004/41/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 21 de abril de 2004, por la que se derogan determinadas Directivas que establecen las condiciones de higiene de los productos alimenticios y las condiciones sanitarias para la producción y comercialización de determinados productos de origen animal destinados al consumo humano y se modifican las Directivas 89/662/CEE y 92/118/CEE del Consejo y la Decisión 95/408/CE del Consejo.

Real Decreto 1469/2007, de 2 de noviembre de 2007, por el que se aprueba la norma de calidad para la carne, el jamón, la paleta y la caña de lomo ibéricos.

Real Decreto 142/2002, de 1 de febrero de 2002, por el que se aprueba la lista positiva de aditivos distintos de colorantes y edulcorantes para su uso en la elaboración de productos alimenticios, así como sus condiciones de utilización (B.O.E. 20. 02. 2002).

Real Decreto 168/1985, de 6 de febrero de 1985, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria sobre "Condiciones Generales de Almacenamiento Frigorífico de Alimentos y Productos Alimentarios". (B.O.E. 14. 02. 1985).

Reglamento 1882/2006, de 19 de diciembre de 2006, de la Comisión, por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de nitratos en ciertos productos alimenticios.

Real Decreto 1334/1999, de 31 de julio de 1999, por el que se aprueba la Norma General de Etiquetado, Presentación y Publicidad de los Productos Alimenticios. (B.O.E. 24. 08. 1999).

Real Decreto 1808/1991, de 13 de diciembre de 1991, por el que se regulan las menciones o marcas que permiten identificar el lote al que pertenece un producto alimenticio. (B.O.E. 25. 12. 1991).

Real Decreto 202/2000, de 11 de febrero de 2000, por el que se establecen las normas relativas a los manipuladores de alimentos. (B.O.E. 25. 02. 2000).

La legislación anterior hace que se aseguren excelentes parámetros de calidad para la producción de jamón curado en España.

1.2.1. Selección y clasificación de la materia prima

Si se inicia el proceso con materias primas de óptimas calidades se asegura un buen desempeño de las piezas a lo largo de la producción, por tanto, resulta indispensable descartar del proceso aquellas piezas que no presenten las características deseables. La heterogeneidad de la materia prima en la industria cárnica es uno de los principales inconvenientes, ya que incluso dos piezas provenientes de un mismo animal pueden tener comportamientos diferentes, y una vez sacrificado el animal, se desencadena una serie de reacciones bioquímicas que se deben saber controlar para dar un buen uso tecnológico a las piezas a procesar. A nivel fisiológico es posible hacer una selección de la materia prima conociendo los niveles de pH de la carne 20 horas después del sacrificio, tiempo en el cual el pH óptimo se encuentra alrededor de 5,7 [4] [5]. Piezas con este valor tendrán un excelente comportamiento para ser procesadas como jamón o para su venta en fresco. Sin embargo la medida de pH no es suficiente como método de clasificación ya que sus valores de pH van disminuyendo con el paso del tiempo, y muchas veces hay lapsos de tiempo que pueden llegar a ser excesivos durante el transporte de las piezas entre los mataderos y las plantas de procesado. Además, estímulos anteriores al sacrificio de los cerdos suelen verse reflejados en el comportamiento post mórtem. En cerdo blanco (Duroch, Landrance, Large White) se pueden acrecentar algunos problemas ya que suelen ser más vulnerables que los cerdos de raza ibérica, al generar pH mayores o menores de 5,7, lo que afecta el proceso de salado. Cuando coinciden piezas de baja calidad, pálidas, suaves y exudativas (PSE) o duras, firmes y oscuras (DFD), con la presencia de microorganismos, el resultado suele ser adverso [6][7][8][9].

Aparte de la clasificación por pH, la materia prima también es clasificada por pesos y espesor de grasa subcutánea. La finalidad de esta clasificación es la de establecer partidas de materia prima que durante las posteriores etapas presenten un comportamiento similar que faciliten la transformación de las piezas. Los procesos difusionales (transferencia de sal y agua) se encuentran entre los más importantes [10][11][12], y estos dependen en gran medida de las características propias de la materia prima, pero sobre todo del tamaño (espesor) [13][14] y cantidad de grasa intra e intermuscular [15]. A nivel industrial la clasificación por peso se realiza mediante balanzas en línea, y la clasificación por espesor de grasa se viene realizando de forma tradicional mediante inspección visual.

1.2.2. Salado

En la etapa de salado se debe proporcionar la cantidad de sal suficiente a cada una de las piezas, en función de su peso y de la relación agua/grasa existente, de tal forma que se garantice un nivel de sal que se difunda a lo largo del post-salado, al objeto de alcanzar un equilibrio dentro de la pieza al final de la etapa. En el salado y en el post-salado se suelen dar los factores más críticos para la materia prima, debido a que la actividad de agua del producto aún no ha descendido lo suficiente, por tanto, las piezas presentan condiciones apropiadas para la proliferación de microorganismos que en altas poblaciones se convierten en agentes alterantes del producto. La contaminación microbiológica del pernil se puede generar en la cadena productora desde la etapa del sacrificio, siendo la evisceración el instante más propicio para su inoculación y propagación, que al no ser controlada, incrementaría la cantidad de

microorganismos y aumentaría la posibilidad de alteraciones en el interior del producto. Esto se minimiza controlando la temperatura de las piezas, de 2-3 °C desde el momento en que se obtienen hasta el inicio de la etapa de salado [16], y a una temperatura interna no mayor a los 5 °C durante el salado y el post-salado, o hasta que la pieza entera haya alcanzado condiciones en las cuales las bacterias no puedan crecer, como una baja actividad de agua inferior a 0,96 [17].

Tradicionalmente el salado se ha venido realizando en contenedores en los que se alternan capas de sal y de pernils. Estos contenedores son depositados en cámaras a temperatura y humedad relativa controladas bajo unas condiciones de aproximadamente 3 °C y 90-95% de humedad relativa. La permanencia del pernil en la cámara de salado es de un día por kilogramo de pieza aproximadamente [18]. De esta forma el pernil capta la sal suficiente para continuar su procesado y obtener al final un producto con las características sensoriales que le caracterizan.

El control de esta etapa, es decir, la evaluación de la cantidad de sal ganada por el pernil, tradicionalmente se ha hecho de forma empírica por el control de la merma de peso que se genera durante la etapa como consecuencia de la mayor pérdida de agua del pernil respecto a la sal ganada. De esta manera, cuando la variación de peso (merma) es aproximadamente del 8% [19], el jamón ha captado la sal suficiente para su procesado. A esta relación se ha podido llegar tradicionalmente de forma intuitiva mediante los análisis químicos de control de sal en los jamones, lo cual ha sido demostrado por algunos autores [20].

El salado en bolsa o en bandeja en donde el aporte de sal es controlado (dosificado) y en los que se ajustan las variables del proceso del jamón curado español, a lo realizado en el proceso del jamón italiano

“Prosciutto”, hacen que la variación de peso sea menor (alrededor del 4%) [21]. En consecuencia, son necesarios nuevos métodos de control capaces de evaluar el nivel de sal adquirido por el pernil; análisis que no sean destructivos, y con la finalidad de que el control pueda llevarse a cabo pieza a pieza. Adicionalmente, la aparición de diferentes métodos de salado busca la mecanización del proceso y la reducción del impacto ambiental que genera el exceso de sal.

1.2.3. Post-salado

El objetivo del post-salado es permitir a los iones sodio y cloruro situados principalmente cerca de la superficie del pernil, y adquiridos durante la etapa de salado, su penetración hacia las zonas más profundas de la pieza [22]. Inicialmente la sal (NaCl) se concentra en la capa externa del pernil, y su velocidad de migración hacia el interior de este, dependerá del contenido de grasa de la pieza. Por tanto, en función de la velocidad de migración, el tiempo de esta etapa puede variar, siendo en el caso de jamón procedente de cerdo blanco de unos 90 días. Durante este tiempo las piezas están colgadas en cámaras de humedad y temperatura controladas (inferior a 3,3 °C), con la finalidad de reducir el peligro de desarrollo microbiano [22] y una humedad relativa alrededor del 80-85%. Al final de esta etapa las piezas habrán perdido aproximadamente del 10 al 15% de su peso inicial (peso antes de ser saladas).

Durante esta etapa se producen procesos difusionales y su control solo es llevado a cabo de forma empírica (control del peso perdido), ya que la evaluación de la difusión de la sal hacia el interior del pernil se tendría que hacer mediante análisis destructivos del contenido en sal, o

utilizando tecnologías mucho más complejas como la tomografía computarizada, resonancias magnético nucleares, etcétera.

Otro de los puntos de control en esta etapa es la posible aparición de problemas microbiológicos derivados de contaminaciones en las etapas anteriores por determinadas bacterias como *Serratia liquefaciens*, *Proteus vulgaris* y *Enterobacter agglomerans*, y que durante esta etapa de post-salado incrementarían su población [13][23]. La evaluación de esta contaminación es posible solo mediante análisis destructivos, ya que solamente hasta el final del proceso de elaboración del jamón, las piezas pueden ser evaluadas mediante lo que se denomina la “cala” del jamón.

1.2.4. Secado-maduración

Durante esta etapa se pretende dar estabilidad microbiológica a las piezas, al mismo tiempo que se siguen desarrollando todas las reacciones bioquímicas y enzimáticas que al final del procesado otorgarán al jamón curado sus características organolépticas. Para ello, y durante un tiempo de procesado que depende del tipo de jamón (aproximadamente un año para jamones porcedentes de cerdo blanco y de dos para procedentes de cerdo ibérico [24][25][26], los jamones irán paulatinamente perdiendo agua para alcanzar al final de su procesado una merma acumulada de aproximadamente un 37% [19]. Esta pérdida de agua y la presencia de la sal adquirida durante el salado provoca que las piezas reduzcan la actividad del agua a valores que las hacen estables microbiológicamente a temperatura ambiente ($a_w=0,85$) [27]. Es durante este tiempo en el que se produce la mayor actividad enzimática, debido al incremento de la temperatura hasta valores próximos a 23 °C [12]. Esta actividad enzimática generará la mayor formación de compuestos que aportarán el

sabor y el aroma, pero que además proporcionarán la textura característica del jamón curado [28][29][30].

Posterior al proceso de la maduración y antes de la salida de los jamones del secadero, se realiza una rigurosa evaluación higiénico sanitaria y de calidad del producto final, que incluye parámetros relevantes relacionados con atributos como: aspecto, olor, sabor, aroma y textura, que en conjunto muestran una relación de calidad que el consumidor percibe. Estos atributos son evaluados sensorialmente por un catador durante el proceso de calado, el cual consiste en la comprobación de la ausencia de defectos detectables a través del olor en las piezas curadas [31]. Para este proceso es necesario disponer de personal adiestrado en la identificación de olores, ya que mediante la introducción de una cala (Figura 2), que es un instrumento punzante fabricado generalmente a partir de un hueso de la caña de caballo o de vaca que al ser introducido en ciertas zonas del jamón, permite la detección de las piezas alteradas. Los principales puntos donde se cala el jamón se localizan en la vena femoral, en la articulación del codillo y en el hueso de la cadera; es decir, en las articulaciones de cadera y rodilla. El proceso se realiza en estos lugares debido a la mayor presencia de líquido sinovial, el cual es un medio de cultivo perfecto para la proliferación de los microorganismos. El gran inconveniente del proceso de calado es la subjetividad del evaluador, que hace que una pieza pueda ser evaluada de manera distinta por catadores diferentes, o bien, debido a la saturación olfativa del catador.



Figura 2. Instrumento “cala”.

Aunque presentan inconvenientes, la “cala” y el proceso de calado como herramientas para determinar la presencia de anomalías en los jamones siguen siendo utilizados hoy día, ya que otras tecnologías más sofisticadas, como la cromatografía -la cual permite determinar incluso los compuestos generados- o el uso de la denominada “nariz electrónica”, no han terminado de ser implantadas en las empresas, salvo para controles puntuales, dada su ineficacia para inspeccionar la totalidad de los jamones producidos. La posible contaminación producida en los pernils durante las etapas de salado y post-salado hace que las piezas solamente pueden ser evaluadas al final del proceso, debido a que durante las etapas previas no son microbiológicamente estables y por tanto no se puede introducir la “cala” dado el riesgo de generar contaminaciones. Por ello, se debe esperar hasta la estabilidad interna del jamón (final del proceso) para poder evaluar mediante la punción con “la cala”, la presencia de olores anómalos que no son apreciados externamente.

1.3. AVANCES EN EL ANÁLISIS DE JAMÓN CURADO. NUEVOS MÉTODOS DE ANÁLISIS DE POSIBLE APLICACIÓN AL SECTOR DEL JAMÓN CURADO

Existe un interés en la búsqueda de soluciones actuales que permitan controlar la seguridad y la calidad de las materias primas, procesos y productos acabados de forma más extensiva, brindando datos en tiempo real y permitiendo un acceso más próximo al alimento.

Frente a las potentes técnicas instrumentales de análisis cualitativo y cuantitativo de alimentos (cromatografía, espectrofotometría, electroforesis, etcétera) con procedimientos complejos, de lenta respuesta por los largos tiempo que precisa el ensayo, y dependientes del personal especializado en el manejo de los equipos, la industria alimentaria precisa métodos rápidos, fiables y económicos para determinar propiedades fisicoquímicas en los procesos de control y asegurar la calidad del producto. Además, generalmente, estas técnicas clásicas de análisis requieren métodos destructivos que dejan inservible la pieza en estudio. Por esta razón, el desarrollo de sistemas de medida no destructivos es un objetivo constante en las investigaciones en varios ámbitos de la industria alimentaria. También es altamente deseable y presenta una clara ventaja competitiva que las técnicas desarrolladas tengan un bajo coste y un funcionamiento sencillo.

En la actualidad existen varios métodos de análisis no destructivo, como la espectroscopia NIR, la tomografía, la resonancia magnética, las lenguas electrónicas, etcétera, cuya aplicación ha sido objeto de estudio para generar nuevas tecnologías adaptables a la industria alimentaria. A continuación, y a modo de ejemplo, se describen algunas de las más

desarrolladas actualmente en alimentos y que han sido aplicadas en el estudio del jamón curado.

1.3.1. Espectrometría NIR

La espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR) es un método de espectroscopia que utiliza el infrarrojo cercano del espectro electromagnético (alrededor de 800 nm y 2500 nm). El espectro del NIR se genera por vibraciones producidas en forma de sobretonos que resultan de los enlaces químicos como consecuencia de la incidencia del haz de luz. Los enlaces químicos presentes entre las moléculas generan una vibración que se comporta como un movimiento armónico simple. El movimiento de cada átomo puede ser tratado como una vibración independiente con respecto a un centro fijo de la masa de la molécula y no como una masa sujeta a un resorte. La frecuencia de la vibración es función de la masa de los dos átomos y de la fuerza de atracción entre ellos, y hay una relación parabólica entre la energía potencial y la distancia interatómica. Cuando coincide la frecuencia de la radiación con la de la molécula que vibra, se genera una transferencia neta de energía proveniente de la radiación de la molécula, la cual puede ser medida y graficada como energía versus longitud de onda. Esta medida se conoce como el espectro [32].

La espectroscopia NIR es una técnica sensible, rápida y no destructiva que proporciona simplicidad en la preparación de muestras durante una valoración simultánea de numerosas propiedades de la carne. Diversos autores han estado aplicando la técnica en el jamón curado, realizando modelos de predicción de la humedad y actividad de agua de la superficie del jamón curado durante su proceso de elaboración (Figura

3) [33]. Aplicando la misma técnica, combinada con la utilización de fibra óptica, a muestras de jamón curado loncheado y envasado, fueron capaces de obtener modelos de predicción de la cantidad de agua, grasa y sal de las muestras [34]. Otros autores correlacionaron además las proteínas y ciertos aminoácidos libres de muestras de jamón curado con el espectro NIR obtenido, si bien, para este estudio las muestras tuvieron que ser ligeramente transformadas [35]. Asimismo, en otras investigaciones se ha determinado la cantidad de grasa intramuscular en muestras de carne de cerdo confirmando que esta es una buena técnica no destructiva para tal fin [36].

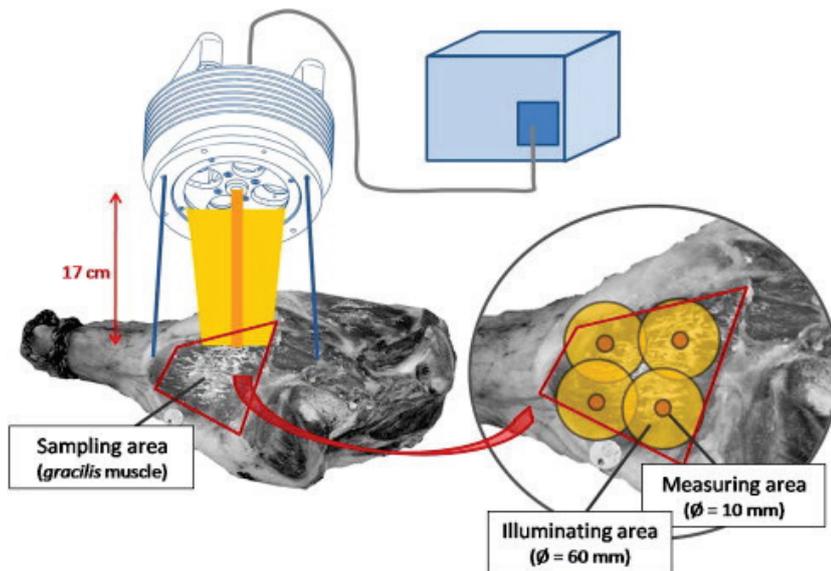


Figura 3. Sonda de medición remota. Adquisición espectral sobre el músculo gracilis. (Collell et al., 2011).

1.3.2. Tomografía computarizada

La tomografía es un procesado de imágenes por secciones. En la mayoría de los casos se basa en un procedimiento matemático llamado reconstrucción topográfica.

La tomografía computarizada (CT) se ha utilizado principalmente en la medicina con fines de diagnóstico [36][38]. No obstante, ha demostrado ser útil en otros campos y sus aplicaciones se han extendido a la paleontología [39], geología [40] y también a la tecnología de los alimentos y al campo de la ciencia de la carne [41]. La aplicación de la tomografía en la ciencia de la carne está basada en las diferentes atenuaciones de rayos-X que producen los diferentes tejidos. Los rayos-X emitidos por el tomógrafo pierden parte de su energía cuando interactúan con los tejidos del cuerpo, en un diferente grado dependiendo de la densidad de los mismos.

En el campo de la tecnología de los alimentos, la CT es especialmente interesante porque es una técnica no destructiva con imágenes 3D que permite la evaluación de algunos productos alimenticios durante diferentes puntos de su procesamiento. Por otro lado, la adquisición de imágenes de alta resolución hace posible la extracción de información tanto cualitativa como cuantitativa. La técnica de la CT se ha utilizado en la estimación de la composición del cuerpo en animales [42][43][44], para el cálculo del porcentaje de magro en canales de cerdo [45][46], la distribución de la grasa en el salmón [47], la cuantificación de materia seca y la pérdida de líquido en el abadejo del Atlántico [48]. Además, la CT se ha mostrado principalmente útil para el estudio de los procesos de curado, ya que una alta densidad de iones de sal produce un aumento de los valores de atenuación de la CT [49], como también en la

cuantificación y descripción de la distribución salina en jamones curados [50][51]. Recientemente, varios autores han demostrado también la linealidad y la fuerte correlación entre las señales de la CT y la concentración de sal en la carne aplicando la técnica de la CT para el estudio del contenido de sal y agua en jamón curado en las etapas de su procesado [52] (Figura 4), así como para predecir la cantidad de grasa intramuscular de los jamones [12].

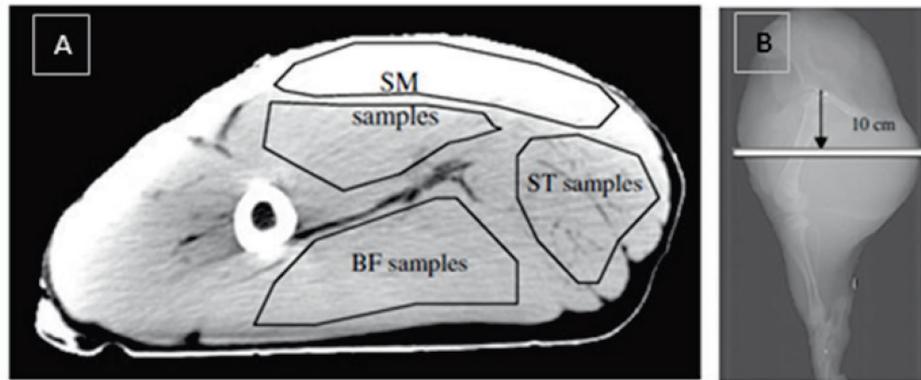


Figura 4. A= Imagen CT (tomograma) de la sección transversal de un pernil salado. B= localización de la muestra. (Fulladosa *et al*, 2010).

1.3.3. Resonancia magnética

La Imagen por Resonancia Magnética (MRI) es una técnica no invasiva que utiliza el fenómeno de la resonancia magnética para obtener información sobre la estructura y la composición del cuerpo a analizar. Esta información es procesada por ordenadores y transformada en imágenes del interior del cuerpo que ha sido estudiado.

Estudios desarrollados en los que se realizó el seguimiento del proceso de maduración de jamón ibérico utilizando Imagen por Resonancia Magnética (MRI) [53] incluyeron una descripción cuantitativa de la variación del volumen y el análisis de las relaciones de humedad y peso durante el proceso de maduración del producto. Mediante técnicas de visión computarizada (Cálculo de Variables, Programación Dinámica y Algoritmos Greedy [54]) se caracterizaron los principales músculos del jamón, *Biceps femoris* y *Semimembranosus*, a los que se les realizó un seguimiento, evaluando la disminución de su volumen durante el procesado y correlacionándolo con la variación del peso del jamón y la tasa de humedad. La Figura 5 muestra el procesado de las imágenes MRI del jamón.

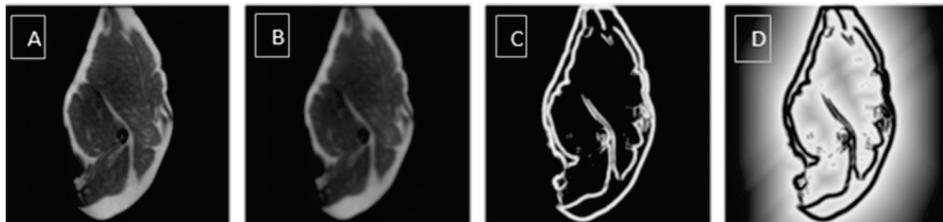


Figura 5. Procesamiento de las imágenes (MRI). A= imagen original; B= imagen filtrada; C= contorno de la imagen; D= imagen del campo de potencial (Antequera *et al.*, 2007).

Otros autores contrastaron Imágenes por Resonancia Magnética (MRI) para el análisis de jamones ibéricos curados de cerdos que fueron engordados con hierba y bellotas con aquellos que fueron engordados con piensos con altas concentraciones de ácido oleico [55]. Basado en técnicas de visión computarizada, los métodos implementados de procesamiento de imágenes permitieron el reconocimiento automático

del músculo *Biceps femoris* así como de su textura. Cuando los datos recogidos fueron comparados con la composición fisicoquímica, se pudo concluir que los antecedentes alimenticios del cerdo ibérico (ya sea hierba y bellotas o piensos con altas concentraciones de ácido oleico) pueden ser descubiertos visualmente mediante la técnica MRI. A modo de ejemplo, la Figura 6 permite observar cómo la secuencia MRI muestra las diferencias visuales según las intensidades de grises: más oscuros para los músculos (en jamones de cerdos alimentados con bellota), y más claros para la grasa intermuscular e intramuscular (en jamones de cerdos alimentados con piensos con alto contenido en oleico).

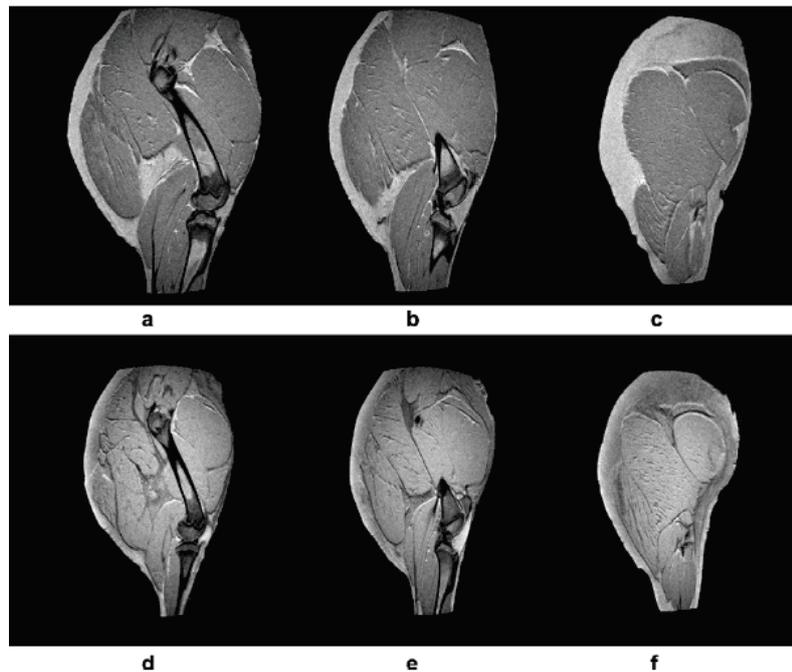


Figura 6. Secuencias MRI de tres perniles ibéricos de cerdos engordados con dietas a base de hierba y bellotas (a, b y c) y piensos con alta concentración de ácido oleico (d, e y f). (Pérez-Palacios *et al.*, 2011).

1.3.4. Ultrasonidos

La técnica del ultrasonido consiste en una onda acústica o sonora cuya frecuencia está por encima del espectro audible por el oído humano (aproximadamente 20.000 Hz). Los ultrasonidos son utilizados habitualmente en aplicaciones industriales (medición de distancias, caracterización interna de materiales, ensayos no destructivos, entre otros), así como en ingeniería civil, para detectar posibles anomalías, y en medicina. La técnica de ultrasonidos es una medida rápida y no destructiva de la firmeza, donde el cuerpo a medir es excitado con golpes sonoros, obteniéndose un espectro de sonidos.

Esta técnica ha sido utilizada para detectar grietas en la superficie de la cáscara de huevo [55] o vacíos en los melones [57], así como para cuantificar la firmeza durante la maduración de melocotones, manzanas y peras [58][59][60]. Ciertos autores [61] han evaluado la textura de queso mediante esta técnica, concluyendo que el comportamiento acústico del queso cambia durante la maduración debido a los cambios en la textura, incrementando así el contenido energético de las frecuencias más altas.

También se ha estudiado el uso de parámetros acústicos obtenidos por el análisis espectral de señales de eco de ultrasonidos para predecir de forma no destructiva el contenido de grasa intramuscular en el músculo de porcino *longissimus* [62]. El análisis multivariante de datos mostró el uso potencial de los parámetros acústicos para predecir el contenido de grasa intramuscular y clasificar correctamente las muestras de acuerdo a su contenido en grasa (Figura 7).

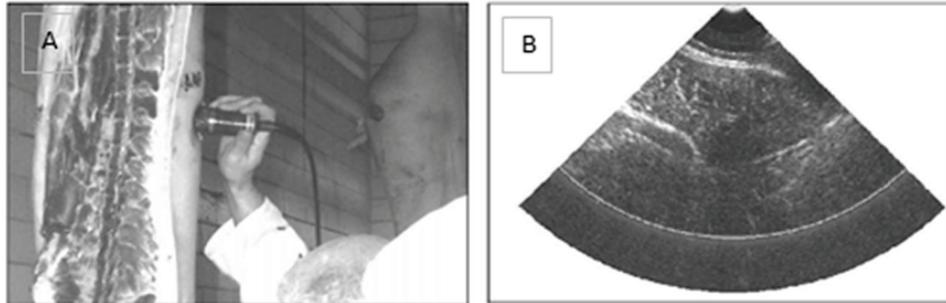


Figura 7. Medida con ultrasonidos. A= Método sobre canales de cerdo. B= Imagen en paleta de cerdo *M. Longissimus*. (Mörlein et al., 2005).

1.3.5. Nariz Electrónica

La nariz electrónica se define como un instrumento dotado de sensores químicos y de un programa quimiométrico de reconocimiento de modelos capaz de reconocer y comparar olores individuales o complejos, esta técnica es solamente aplicable a muestras gaseosas, diferencia principal con las lenguas electrónicas (Figura 8). Al igual que el sistema olfativo humano, su objetivo es relacionar el aroma que se percibe con una respuesta que, tras ser almacenada en la memoria, servirá como modelo en posteriores análisis.

La diferencia fundamental entre los sistemas de olfato electrónico reside en la tipología de los sensores empleados. Los sensores de gases, más avanzados hasta el momento, utilizan la técnica de la espectrometría de masas (HS-MS).

Son muchas y muy variadas las aplicaciones que han aparecido de la nariz electrónica para el control de calidad de alimentos: predicción de la acidez, solubilidad del sólido y firmeza en peras [63]; evaluación de los principales defectos aromáticos del aceite de oliva [64]; de la calidad en

fresco de pescado envasado a 3 °C [65]; clasificación de diferentes clases de vinos utilizando una nariz electrónica [66]; aplicación de una nariz electrónica portátil para determinar la frescura de sardinas [67]; clasificación de jamones ibéricos en función del tipo de cría de los cerdos, montanera o pienso [68].

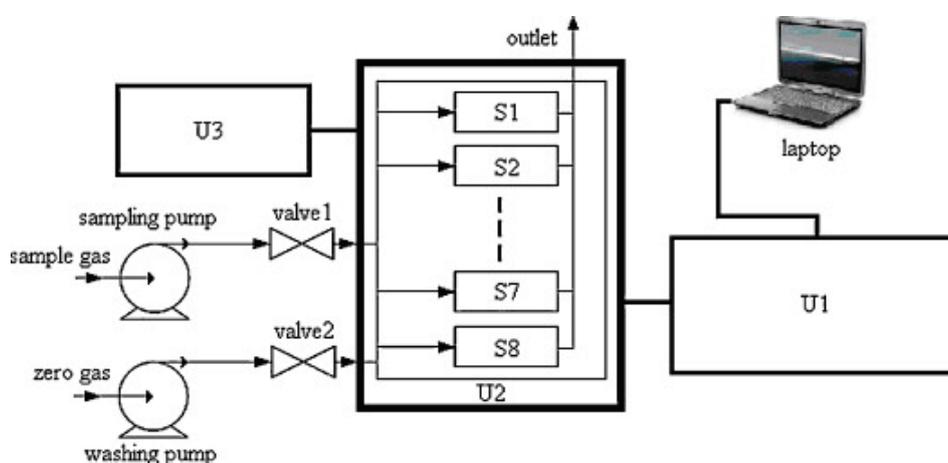


Figura 8. Sistema de nariz electrónica. U1: módulo de adquisición de datos; U2: cámara de sensores; U3: suministro de gas y electricidad. (Adaptado de Guohua *et al.*, 2012).

1.3.6. Lenguas Electrónicas

En el punto anterior se han mostrado técnicas más o menos novedosas, de posible aplicación en el sector del jamón curado. Ninguna de ellas ha sido lo suficientemente atractiva para el sector de la industria jamonera, por tanto, no han sido implementadas en las líneas de producción por parte de las empresas más importantes del sector. Así, uno de los métodos de análisis que en la actualidad se siguen utilizando, como se ha comentado anteriormente, es la “cala”. Es necesario continuar con las

investigaciones al objeto de encontrar una herramienta que pueda ser útil para el sector. Por consiguiente, basándose en el concepto de la “cala”, se plantea el uso de las lenguas electrónicas.

El concepto de la lengua electrónica

Los sensores utilizados en esta tesis de naturaleza potenciométrica, voltamétrica y el sistema basado en la espectroscopia de impedancia, hacen parte del grupo de sensores conocidos comúnmente como lenguas electrónicas. Distintos tipos de trabajos se han desarrollado en torno al tema con aplicaciones a la industria alimentaria [69][70], la industria farmacéutica [70][71] y aplicaciones medioambientales [73]. Las lenguas electrónicas están formadas por un conjunto de electrodos no selectivos con diferentes grados de sensibilidad a múltiples propiedades. Los sensores del sistema de una lengua electrónica realizan medidas que adquieren forma de señal eléctrica, donde el sensor no responde solamente a un analito sino a diferentes sustancias presentes en el medio. La respuesta a este conjunto de electrodos ofrece una huella electrónica característica para cada especie. La señal obtenida suele necesitar un acondicionamiento antes de ser transmitida a un ordenador. De forma semejante, los nervios sensitivos del gusto transmiten la señal nerviosa al cerebro. La suma de todas las huellas permite establecer un patrón de reconocimiento, que con el adecuado tratamiento estadístico de los datos y utilizando métodos de análisis multivariantes, y brinda un análisis tanto cualitativo como cuantitativo (Figura 9) que permite reconocer patrones de medida o realizar clasificaciones por analogía con análisis previos que equivalen al trabajo que realizan las neuronas del cerebro para procesar la información de la memoria y asociar el nuevo producto a un sabor conocido. Antes de

poder llevar a cabo la clasificación o cuantificación en estos sistemas de medida, normalmente se suele realizar un proceso de aprendizaje en el que las muestras de características conocidas son procesadas para generar el algoritmo de clasificación o el modelo de predicción.

Así como existen diferentes tipos de papilas para diferentes gustos, los sensores no suelen ser todos iguales, sino que poseen normalmente diferentes tipos de sensibilidades. La diferencia entre las lenguas electrónicas y los sistemas basados en la espectroscopia de impedancia consiste en que en los últimos, el conjunto de electrodos se reduce a uno y al realizar determinaciones de impedancia en un rango de frecuencias predeterminado, se crea un espectro.

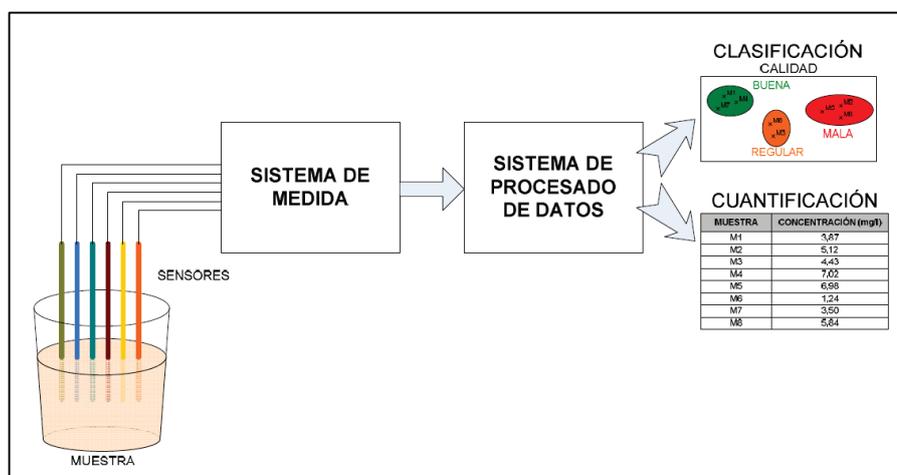


Figura 9. Lengua electrónica. (Alcañiz, 2011)

Potenciometría

El método potenciométrico de análisis consiste en la medida de un potencial con el fin de conocer la actividad (concentración) de una

sustancia en disolución. El objetivo de una medición potenciométrica es obtener información acerca de la composición de una disolución mediante el potencial que aparece entre dos electrodos.

Las aplicaciones más frecuentes de las lenguas electrónicas potenciométricas en el sector alimentario están relacionadas con bebidas ya sean alcohólicas o no alcohólicas, por ejemplo, la clasificación de refrescos y cervezas [74], la comparación de diversas aguas minerales comerciales con agua del grifo [75], la cuantificación de la cantidad de zumo natural en distintos refrescos [76], la discriminación entre distintos tipos de fermentación y almacenamiento de leche probiótica [77]. También se han publicado un gran número de trabajos sobre medidas realizadas en vinos, bien para determinar el contenido en alcoholes [78] o para cuantificar el contenido en ácidos orgánicos y fenoles o el tiempo de crianza [79]. Otros autores aplican una lengua electrónica para la determinación de características de cervezas [80]. Además, se han llevado a cabo trabajos con lenguas potenciométricas sobre frutas y verduras, como la clasificación de diversas variedades de manzanas [81], la evolución con el tiempo de parámetros químicos en albaricoques [82], la determinación de los azúcares, los ácidos y las sales minerales en tomates [83], la detección de gluten en alimentos (pan, harina, galletas, cereales y papillas para bebés) [84], la clasificación de distintas mieles en función de su origen floral y geográfico [85], etcétera.

Aunque en la mayoría de los casos las aplicaciones de las lenguas electrónicas potenciométricas están destinadas a líquidos, existen algunos trabajos en los que las medidas se realizaron sobre alimentos

sólidos, por ejemplo, la medida de frescura de pescado [86] [87] o la evaluación de la vida útil de la carne de cerdo [88], entre otros.

La medición del potencial se determina bajo condiciones reversibles termodinámicamente, y esto implica que se debe dejar pasar el tiempo suficiente para llegar al equilibrio, extrayendo la mínima cantidad de intensidad eléctrica para no influir sobre el equilibrio que se establece entre los electrodos y la muestra en estudio.

Tipos de electrodos

Los equipos requeridos para los métodos potenciométricos son sencillos y económicos. Incluyen un electrodo de referencia, un electrodo indicador y un dispositivo para la medida del potencial.

Electrodo de referencia

Los electrodos de referencia miden el mismo potencial cualquiera que sea la naturaleza de la disolución en que se introduzcan, y por tanto, dan una referencia al electrodo indicador. Están constituidos por un conductor metálico en contacto con una sal poco soluble de su metal y una disolución de composición constante y alta concentración llamada electrolito de referencia. Los electrodos de referencia más utilizados son el electrodo de calomelanos y el electrodo de Ag/AgCl.

Electrodo de Calomelanos.

El electrodo de Calomelanos se compone de mercurio (Hg) en contacto con una disolución saturada de cloruro mercurioso que contiene también una concentración conocida de cloruro de potasio (KCl). El potencial del

electrodo saturado es 0,241 V a 25 °C respecto al electrodo estándar de hidrógeno. La reacción del electrodo es: $\text{Hg}_2\text{Cl}_2(\text{s}) + 2 \text{e}^- \rightarrow 2 \text{Hg}(\text{l}) + 2 \text{Cl}^-$.

Electrodo de Ag/AgCl.

El electrodo de Ag/AgCl es un electrodo formado por un hilo de plata (Ag) introducido en una disolución de cloruro de potasio (KCl) en contacto con un precipitado de cloruro de plata (AgCl). El potencial del electrodo saturado es 0,197 V a 25 °C respecto al electrodo estándar de hidrógeno. La semi-reacción del electrodo es: $\text{AgCl}(\text{s}) + \text{e}^- \rightarrow \text{Ag}(\text{s}) + \text{Cl}^-$.

Electrodo indicador

Un electrodo indicador es aquel que genera un potencial cuyo valor es dependiente de la composición del analito en la disolución. Un electrodo indicador ideal responde de forma rápida y reproducible a los cambios de actividad del ion analito. Las características principales de los electrodos indicadores son:

- Su potencial debe variar con la concentración de la especie electroactiva.
- Respuesta rápida y reproducible.
- Fácil de preparar.
- Resistente física y químicamente.
- Variación pequeña del potencial con la temperatura.

1.3.7. Voltametría

La voltametría es un método electroanalítico en el que la información obtenida de una muestra resulta de la medida de la intensidad de corriente en función de un potencial aplicado, en condiciones que favorezcan la polarización de un electrodo indicador o de trabajo. La voltametría se basa en la medida de la intensidad de corriente que se desarrolla en una celda electroquímica en condiciones de total polarización de concentración; además, en la voltametría hay un consumo mínimo de analito. La voltametría es una herramienta utilizada en el ámbito químico, en el estudio de procesos de oxidación y reducción, así como en los procesos de adsorción. Inicialmente, con la voltametría se buscaba discriminar entre diferentes muestras de disoluciones a partir de su distinto comportamiento en el proceso de oxidación y reducción [89]. Para realizar medidas voltamétricas se utiliza una celda que consta de tres electrodos.

- Un contraelectrodo o electrodo auxiliar que permite la circulación de la corriente hacia el electrodo de trabajo.
- Un electrodo de referencia que cumple dos condiciones: no producir circulación de corriente por el mismo electrodo y ser muy estable ante cambios de concentraciones en la disolución que se mide.
- Un electrodo de trabajo que al aplicarle una tensión controlada mide la corriente que circula por él.

En esta técnica se aplica una señal de excitación a una celda electroquímica mediante un microelectrodo, la que provoca una respuesta de intensidad de corriente.

Como sucede con la potenciometría con voltametría, muchos de los trabajos desarrollados en alimentos han sido realizados sobre bebidas alcohólicas. En vinos se ha utilizado con distintos propósitos como la clasificación de variedades de vinos blancos y vinos tintos [90][91], la discriminación de procesos de envejecimiento de vino tinto y la cuantificación del contenido de polifenoles [93], etcétera. Otros autores clasificaron diversos tipos de bebidas (vinos, cervezas, cafés, leches y zumos de fruta) [94]. También, se ha utilizado para la discriminación de soluciones con distintos sabores [95], la clasificación de cervezas [96] y la diferenciación de téis [97][97][98]. En la industria láctea la técnica de voltametría se ha empleado para monitorizar procesos [99] y la predicción microbiológica [100]. En alimentos sólidos se han presentado trabajos en los que se cuantifica el contenido de cloruro de sodio, los nitritos y nitratos en carne picada [101], así como para la determinación del tiempo de almacenamiento de pescado [102].

1.3.8. Espectroscopia de impedancia

La espectroscopia de impedancia es definida como un método de caracterización de las propiedades eléctricas de los materiales y de sus interfaces con los electrodos [103]. Esta técnica consiste en aplicar un estímulo eléctrico a los electrodos, observar su respuesta y determinar sus propiedades, interacciones y dependencias con determinados factores [104]. La respuesta eléctrica puede variar sustancialmente en función de las cargas presentes (iones libres), la microestructura y naturaleza del electrolito y la textura, geometría y naturaleza de los electrodos. Las medidas de impedancia eléctrica determinan o infieren información acerca del tejido, siempre y cuando el evento en análisis

presente un cambio en dimensión, en sus propiedades eléctricas o en su conductividad [105] [106]. La espectroscopia de impedancia aporta información sobre la estructura eléctrica del tejido permitiendo separar los componentes resistivos de los reactivos.

La impedancia se puede relacionar a nivel teórico con las propiedades dieléctricas de la materia. La impedancia es la oposición que presenta un determinado material al paso de una corriente a través de él. Es consecuencia directa de su composición y de su naturaleza interna (número de iones presentes, microestructura del electrolito, etcétera). Su respuesta depende tanto de sus propiedades dieléctricas como de las cualidades y factores geométricos de los electrodos. El procedimiento experimental de la medida de espectroscopia de impedancia consiste en aplicar una pequeña señal eléctrica senoidal (tensión o corriente) a un electrodo y medir su respuesta (corriente o tensión) a diferentes frecuencias obteniendo como resultado un valor de impedancia para cada frecuencia (espectro de impedancia) [107].

Se han desarrollado distintos trabajos utilizando la técnica de espectroscopia de impedancia aplicada a alimentos sólidos, por ejemplo, para la diferenciación de características de estructura y textura en patata [108], y en jamones curados [109], para la diferenciación entre muestras congeladas y descongeladas de pescados [110][111], para la selección de materias primas en porcino [112] y para la evaluación del contenido de sal en pescado [113].

1.4. PROCESAMIENTO DE DATOS

Una de las características de las técnicas electrónicas descritas anteriormente y utilizadas en el desarrollo de esta tesis doctoral es el volumen de datos generados por las señales resultantes de cada medición, lo que obligó a la utilización de métodos estadísticos de análisis multivariante para manejar la información. A continuación se describen los métodos utilizados: Análisis de Componentes principales (PCA), Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrado Parciales (PLS-DA) y Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales (PLS).

1.4.1. Análisis de componentes principales (PCA)

El análisis de componentes principales (PCA) es una técnica de análisis multivariante que consiste en encontrar un nuevo sistema de referencia que permita reducir la dimensión de nuestro espacio de variables independientes dado que cuando el número de variables independientes es mayor de tres resulta difícil representar las muestras en función de las medidas [114]. El PCA puede emplearse como una herramienta de clasificación no supervisada o como paso previo a otros análisis, ya que permite tener una visión general del conjunto de los datos recogidos. El nuevo sistema de referencia debe cumplir las siguientes condiciones:

- Los ejes de este nuevo sistema de referencia deben ser ortogonales entre sí, de forma que la información aportada por cada uno de ellos sea diferente y exclusiva.
- La proyección de los datos sobre el nuevo sistema de referencia debe contener la información completa del conjunto de los datos, concentrando en los primeros ejes la información más relevante.

- A los ejes de este nuevo sistema de referencia se les denomina componentes principales.

Cuando se lleva a cabo un análisis de componentes principales se asegura que la primera componente principal contenga el máximo de la varianza de los datos. A continuación se elige la segunda componente principal de forma que contenga el máximo de la varianza restante (es decir, la varianza que no haya sido explicada por la primera componente principal) y que sea ortogonal a la primera componente. Y de igual modo se procede con el resto de componentes principales [115]. Una vez se ha construido el nuevo sistema de referencia, una representación de las muestras proyectadas sobre las dos primeras componentes principales, daría, a priori, la máxima información que se puede obtener sobre las medidas trabajando en dos dimensiones. Por lo general, el PCA se utiliza para poder visualizar matrices de datos que contienen un gran número de variables independientes en dos o tres dimensiones. A partir de estas representaciones se pueden desarrollar hipótesis para agrupar y clasificar las muestras que pueden ser estudiadas por métodos estadísticos apropiados.

1.4.2. Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales (PLS)

La regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) se basa en el mismo principio que el PCA, pero a diferencia de éste intenta maximizar la covarianza entre las variables predictoras y las variables a predecir [116]. Identifica la relación existente entre los bloques de datos X e Y, y se utilizan como método de cuantificación. Emplea una serie de factores ortogonales llamados variables latentes (el equivalente a las componentes principales) que capturan la máxima varianza posible.

Para establecer el modelo de predicción selecciona aquellas cuya varianza con las variables a predecir, sea máxima. Su funcionamiento es de los denominados supervisado. En la fase de entrenamiento (también llamada fase de calibración) se crea un modelo que relaciona variables predictoras (variables de entrada) con las variables a predecir (variables de salida) maximizando la covarianza entre ambas. En la fase de evaluación (también llamada fase de validación) el PLS se convierte en una herramienta de predicción. Se aplica el modelo construido en la fase de entrenamiento a nuevas muestras para predecir las variables de salida.

Creación del modelo de calibración, validación cruzada (CV)

El objetivo del método de calibración es establecer un modelo que sea capaz de predecir el valor de la propiedad estudiada en nuevas muestras. Se trabaja con un número limitado de muestras representativas de la población, de las que se conoce el valor de la propiedad a determinar. Los datos de partida se representan en dos matrices distintas. Se escoge el modelo que mejor describe la relación entre ambas.

1.4.3. Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA)

El análisis discriminante PLS-DA es un método estadístico muy similar al análisis discriminante lineal (LDA). PLS-DA es esencialmente el enfoque inverso de mínimos cuadrados para LDA y produce el mismo resultado [117], pero con importante reducción de ruido y con las ventajas de selección de variables de mínimos cuadrados parciales (PLS).

El análisis PLS-DA se utiliza para desarrollar un modelo que predice el número de clase para cada muestra (análisis de la componente Y).

1.5. JUSTIFICACIÓN

La producción de jamones y paletas en España ha sido desde siempre una actividad muy importante ligada a la economía y a la cultura española. Con el paso del tiempo la elaboración de piezas curadas ha ido cambiando su dinámica, dejando de ser un producto artesanal, estacionario y de bajos volúmenes de fabricación. El aumento de la demanda ha hecho que se invierta en avances científicos y tecnológicos, lo que ha generado mejoras en la producción de cerdos y en los procesos de transformación, posibilitando una producción industrializada de altos volúmenes y equilibrada a lo largo del año, además de la aparición de nuevos formatos de consumo como centros deshuesados, loncheados y tacos [118][119], y que con el aumento del consumo de jamón y paleta curada han generado un considerable incremento en el volumen de la fabricación de productos curados. La gran cantidad de piezas manejadas hace necesario procesos de elaboración y control automatizados adaptables a la industria que no generen grandes costes, que no sean destructivos, ni basados en la subjetividad del evaluador.

En la presente tesis se detallan los ensayos realizados con diferentes sensores electrónicos probados sobre piezas utilizadas en las distintas etapas de la producción del jamón curado: selección de materia prima, post-salado, curado y evaluación higiénico sanitaria del producto terminado. Los sensores evaluados fueron desarrollados en la

Universidad Politécnica de Valencia conjuntamente con el Departamento de Tecnología de Alimentos y el Departamento de Ingeniería Electrónica. Estos sensores fueron diseñados específicamente para ser aplicados a la industria alimentaria sobre muestras sólidas, ya que generalmente este tipo de técnicas han sido utilizadas en muestras líquidas, además se han evaluado metales de los que no se tiene registro de aplicación al proceso de producción de jamón curado. Los sensores evaluados, han demostrado un desempeño aceptable en estudios previos de espectroscopia de impedancia [120], de potenciometría [121] y de voltametría [122]. La evaluación de la aplicación del uso de sensores electrónicos para el control de proceso y optimización de la producción del jamón curado resulta una alternativa atractiva a las prácticas actuales que suelen ser destructivas (determinaciones fisicoquímicas y microbiológicas) y subjetivas (evaluación del producto final).

Objetivo

2. OBJETIVO

2.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la aplicación y utilización de sensores basados en técnicas electrónicas de espectroscopia de impedancia, potenciometría y voltametría de pulsos para el control de las etapas del proceso industrial de elaboración del jamón curado.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la caracterización fisicoquímica de los jamones producidos por la empresa colaboradora.
- Conocer el proceso de salado de la empresa colaboradora y estudiar el efecto de las diferentes materias primas en la etapa de salado.
- Evaluar la capacidad de los sensores electrónicos para la clasificación y selección de materia prima.
- Evaluar la capacidad de los sensores electrónicos para la caracterización de los jamones durante la etapa de post-salado.
- Evaluar la capacidad de los sensores electrónicos para la caracterización de los jamones una vez elaborados.
- Evaluar la capacidad de los sensores electrónicos para la valoración higiénico sanitaria de jamones curados.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Si bien las empresas productoras de alimentos curados, y en especial los secaderos de jamón tienen amplia experiencia en el procesos de salado tradicional (salado en pila), generar cambios en el proceso de salado, como el salado en bandeja, conlleva modificaciones en la producción, lo que implica invertir tiempo en el proceso de adaptación y aplicación de la tecnología alternativa.

En este sentido la realización de la presente tesis doctoral se ha enmarcado dentro del proyecto (IPT-060000-2010-18-AR) de investigación financiado por el MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN, programa INNPACTO en el que la vinculación de la empresa colaboradora fue fundamental. Así, durante la ejecución del proyecto de investigación, al cual se asocia la tesis doctoral propuesta, la empresa colaboradora fue incorporando mejoras en los parámetros de procesado, los cuales quedan reflejados en la presente.

Titulo del proyecto: Nuevo sistema de optimización y control de los procesos de elaboración del jamón curado (IPT-060000-2010-018)

Duración: de junio de 2010 a junio de 2013

Coordinador del proyecto: José Manuel Barat Baviera

3.1. PLAN DE TRABAJO

Para lograr los objetivos propuestos se desarrolló el plan de trabajo expuesto en la Figura 10 en el que se consideraron dos fases:

1. Caracterización del proceso de salado en bandeja realizado por la empresa colaboradora. El presente punto se planteó con la finalidad de conocer el producto elaborado por la empresa, así como para ajustar su proceso de salado.
2. Estudio de la viabilidad de sensores electrónicos en el procesado de jamón curado. Este apartado se planteó a fin de evaluar la capacidad de los sensores electrónicos en estudio, para caracterizar los jamones durante las etapas de procesado, así como el producto final, tanto de sus características fisicoquímicas como microbiológicas.

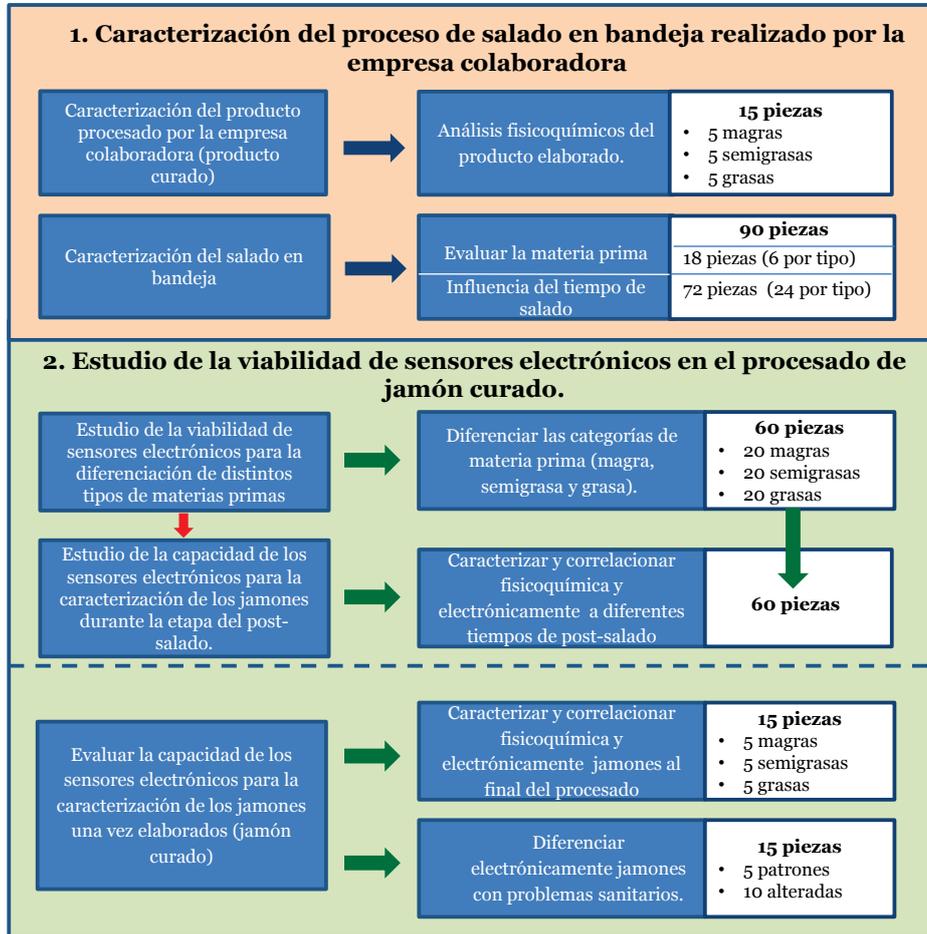


Figura 10. Plan de trabajo.

3.2. MATERIA PRIMA Y ANÁLISIS REALIZADOS

Los ensayos se realizaron sobre piezas de cerdo de raza Large White con un tiempo de sacrificio aproximado de 24 horas, procedentes de mataderos asociados a la empresa colaboradora. Una vez recepcionadas las piezas en la empresa se les realizó el control de pH, la clasificación por peso y la codificación. Posteriormente se mantuvieron en

condiciones de refrigeración (2 a 4 °C) durante 24 horas hasta su procesado.

3.3. CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE SALADO EN BANDEJA REALIZADO POR LA EMPRESA COLABORADORA

3.3.1. Caracterización del producto procesado por la empresa colaboradora (producto curado)

En el estudio previo de caracterización de jamones procesados por la empresa se utilizaron jamones de aproximadamente ocho meses de curación, con un peso final comprendido entre los 8,0 - 8,5 Kg (merma final acumulada de aproximadamente 35%) los cuales tuvieron un salado de once días por Kg y un post-salado de 90 días. Para tal fin, se utilizaron 15 jamones de las categorías manejadas por la empresa colaboradora: cinco magros, cinco semigrasos y cinco grasos, a los que se les realizaron las determinaciones fisicoquímicas de humedad, grasa, cloruro sódico y actividad de agua. Con este propósito los jamones, una vez deshuesados, fueron picados en su totalidad, obteniéndose las muestras homogéneas de análisis.

3.3.2. Caracterización del salado en bandeja

Con la finalidad de ajustar el proceso de salado en bandeja realizado por la empresa colaboradora se utilizaron 90 perniles frescos con un peso aproximado de $11,5 \pm 1$ Kg y un pH entre 5,6 y 6,1. Todas las piezas

procedieron de mataderos asociados a la empresa, asignados a tres categorías de materia prima según caracterizaciones hechas por la empresa (graso, magro y semimagro).

De los 90 pernils, 18 fueron utilizados para una caracterización microbiológica y para determinar su contenido en grasa, dado que éste es un factor muy influyente en este tipo de salado. Por ello, se extrajo la muestra de jamón de forma aséptica de la zona interna próxima a la articulación coxofemoral. Se realizaron las determinaciones de microorganismos aerobios mesófilos, enterobacterias, micrococáceas y bacterias ácido lácticas. El resto del pernil fue picado en su totalidad y, una vez homogeneizado, se determinó su contenido en grasa. Los 72 pernils restantes fueron salados en bandeja por la empresa a los diferentes tiempos establecidos para el estudio: a 12, 16, 20 y 25 días (Tabla 2). Los tiempos de salado se seleccionaron utilizando la información obtenida a partir de la caracterización descrita en el punto anterior.

Después del salado, los pernils fueron lavados y dejados en refrigeración durante 24 horas a 3 °C para su escurrido antes de ser enviados a los laboratorios de la Universidad con el fin de que se analizase su contenido en sal. Para ello, los jamones tras su deshuesado fueron picados en su totalidad, obteniéndose una muestra homogénea.

Tabla 2. Distribución de las piezas por categoría y tiempo de salado.

t (días)	Materia prima	Piezas (n)
12	Magro	6
	Semi-graso	6
	Graso	6
16	Magro	6
	Semi-graso	6
	Graso	6
20	Magro	6
	Semi-graso	6
	Graso	6
25	Magro	6
	Semi-graso	6
	Graso	6

Una vez hecho el proceso de clasificación de las piezas se procedió a la realización del salado en bandeja por parte de la empresa colaborada. El procedimiento consistió en aplicarle a los perniles una mezcla nitrificante y una cantidad de sal proporcional al peso del jamón sobre la pieza. Posteriormente, los perniles se dejaron sobre bandejas acanaladas que permitieron que la salmuera generada drenara y fuese recogida para su posterior tratamiento. Durante el tiempo de salado la humedad relativa de las cámaras se mantuvo a niveles de saturación, mediante aspersores para asegurar la presencia de agua que facilitara y mantuviera el proceso de difusión, a una temperatura de 4 °C. Una vez finalizado el tiempo de salado se retiró la sal de la superficie de los jamones mediante cepillado y lavado, realizando posteriormente un escurrido a 4 °C.

3.4. ESTUDIO DE LA VIABILIDAD DE SENSORES ELECTRÓNICOS EN EL PROCESADO DE JAMÓN CURADO

3.4.1. Estudio de la viabilidad de sensores electrónicos para la diferenciación de distintitos tipos de materias primas

Para el estudio de la viabilidad de sensores electrónicos para la diferenciación de distintitos tipos de materias primas se utilizaron 60 pernils frescos (20 magros, 20 semimagros y 20 grasos), los cuales fueron evaluados mediante los sensores electrónicos (impedancia, potencimetría y voltimetría), con base en la clasificación previa, por el contenido de grasa, realizada por la empresa colaboradora. Las piezas empleadas tuvieron un peso aproximado de $10,9 \pm 1$ Kg y un pH entre 5,7 y 5,9. En todos los casos las medidas electrónicas se realizaron sobre la superficie del pernil. Una vez analizados los datos de la señal se realizaron ajustes sobre los sensores para intentar mejorar su rendimiento.

3.4.2. Estudio de la capacidad de los sensores electrónicos para la caracterización de los jamones durante la etapa de post-salado

En el estudio se utilizaron los 60 pernils procedentes del estudio de diferenciación de materia prima, los cuales fueron salados en función de los resultados obtenidos en el estudio descrito anteriormente. Después del salado, se realizaron determinaciones electrónicas y fisicoquímicas a diferentes tiempos de post-salado 8, 10, 12 y 14 semanas. Se efectuaron análisis fisicoquímicos del contenido de humedad, de grasa, de sal y la

actividad de agua; y las determinaciones electrónicas con los sensores de espectroscopia de impedancia y la potenciometría, con la finalidad de realizar correlaciones. Los análisis fueron efectuados sobre cuatro zonas denominadas “A”, “B”, “C” y “R” para las determinaciones fisicoquímicas, y solo sobre las tres primeras zonas para el caso de las determinaciones electrónicas. Las zonas de análisis se extrajeron de una loncha de la parte central del jamón de aproximadamente cinco centímetros de espesor, de la región comprendida unos centímetros por debajo de la articulación coxofemoral en dirección hacia el extremo de la pata. De esta se definieron tres áreas: zona “A”, la zona más externa, zona “B”, la zona más cercana al hueso y la zona “C”, la más interna (Figura 11). La cuarta muestra, denominada “R”, se obtuvo del picado y homogeneizado del resto del jamón, representando esta la totalidad de cada pieza. Las lecturas electrónicas siempre se realizaron sobre cada una de las zonas, siendo posteriormente las zonas “A”, “B” y “C” picadas y homogeneizadas para la realización de las determinaciones fisicoquímicas.

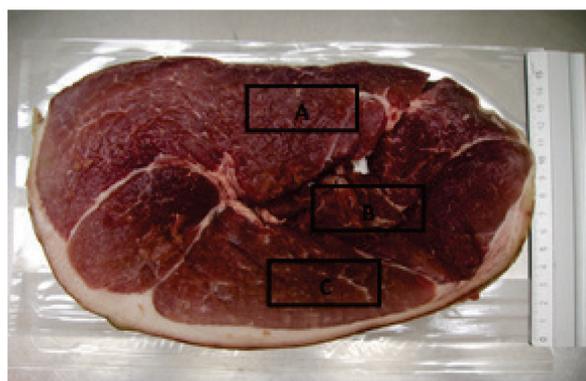


Figura 11. Zonas de análisis en las lonchas extraídas de las piezas.

3.4.3. Evaluación de la capacidad de los sensores electrónicos para la caracterización de los jamones curados

Para el desarrollo de esta etapa se utilizaron los sensores de espectroscopia de impedancia y potenciometría. Se obtuvieron señales de espectroscopia de impedancia de las zonas de análisis “A”, “B” y “C” de jamones curados de las categorías grasa, magra y semigrasa, para relacionarlas con las características fisicoquímicas del producto terminado. Con la técnica potenciométrica se analizaron jamones en perfecto estado y jamones con problemas sanitarios para intentar discriminar entre los dos tipos de muestras.

3.4.4. Evaluación de jamones curados

Se realizaron determinaciones electrónicas utilizando la técnica de espectroscopia de impedancia sobre 15 jamones, cinco de cada tipo de materia prima. El tiempo de salado fue establecido por la empresa antes de conocer los resultados del estudio del tiempo necesario para el salado en bandeja, teniendo en cuenta los resultados de la caracterización del producto terminado que se menciona en el apartado correspondiente a la caracterización del producto curado. Los jamones evaluados presentaron las siguientes características de proceso: salado en bandeja de diez días por Kg de pernil para las piezas grasas, de 17 días por Kg de pernil para las piezas magras y semigrasas, post-salado de 90 días y un curado hasta alcanzar el 35% de merma final acumulada.

Se realizaron los análisis fisicoquímicos del contenido de humedad, de grasa, de sal y la actividad de agua. La toma de muestra y el proceso de medida se realizó, como lo establecido en el apartado anterior, sobre las cuatro zonas de análisis “A”, “B”, “C” y “R”.

3.4.5. Evaluación de jamones curados con problemas higiénico sanitarios

La experiencia se llevó a cabo con el estudio de 23 jamones de un mismo lote (procesados según la metodología descrita en el punto anterior), los cuales fueron evaluados por personal experto de la empresa, realizando una valoración olfativa. El protocolo de clasificación en la empresa consistió en la introducción de la “cala” en las zonas establecidas: la zona central (fémur, unión coxofemoral) y la zona del hueso de la cadera y codillo. De las piezas utilizadas, ocho jamones (patrón) mostraron características estándares de calidad exigidas por la empresa, entre las que se encuentra el olor típico a jamón curado. Los 15 jamones restantes (alterados) presentaron olores no deseados según los evaluadores.

Posteriormente, en la Universidad se realizaron las determinaciones electrónicas de potenciometría y los análisis fisicoquímicos del contenido de humedad, de grasa, de sal y la actividad de agua; adicionalmente, se hicieron las determinaciones microbiológicas de microorganismos aerobios mesófilos, enterobacterias, micrococáceas, bacterias ácido lácticas, clostridium sulfito reductores y bacterias halotolerantes.

Los primeros análisis que se efectuaron fueron los potenciométricos. Para este análisis (no destructivo) se utilizó la pieza completa introduciendo directamente la sonda diseñada dentro del jamón (en la zona de la articulación coxofemoral), obteniéndose así las respuestas potenciométricas. Posteriormente, y de forma aséptica, se tomaron las muestras para los análisis microbiológicos de la zona interna, y finalmente se utilizó el resto de la muestra para las determinaciones fisicoquímicas de esta área cercana a la articulación.

Determinaciones analíticas

Determinaciones Fisicoquímicas

Humedad

La determinación de la humedad se realizó según el método de la AOAC [123]. Los pesasustancias con arena de mar y varilla de vidrio se secaron en estufa (J.P. Selecta, S.A., Barcelona, España) a 103 ± 2 °C durante 24 horas. Seguidamente se atemperaron en un desecador y se pesaron en una balanza analítica (m_0). Se añadieron diez gramos de muestra triturada y se pesaron de nuevo los pesasustancias con la arena, la varilla y la muestra (m_1). Con ayuda de la varilla de vidrio se homogeneizó la muestra con la arena, favoreciéndose la salida del agua del producto. Las muestras se mantuvieron en estufa a 103 ± 2 °C durante 24 horas, periodo tras el cual los pesasustancias se atemperaron en el desecador y se tomó el peso de estos (m_2). El porcentaje de humedad expresado en gramos de agua por 100 gramos de muestra se calculó mediante la siguiente ecuación

$$\% \text{ humedad} = \frac{(m_1 - m_2)}{(m_1 - m_0)} * 100$$

donde:

m_0 = masa del pesasustancias con arena y varilla (g).

m_1 = masa del pesasustancias con arena, varilla y muestra antes de la desecación (g).

m_2 = masa del pesasustancias con arena, varilla y muestra después de la desecación (g).

Lípidos

La determinación de grasa se realizó por extracción por Soxhlet con éter de petróleo según el método de la norma ISO R-1443 [124]. Se pesaron aproximadamente 10 gramos de muestra (m_0) en un pesasustancias, se homogeneizaron con arena de mar y se secaron hasta obtener un peso constante en estufa a 103 ± 2 °C. El contenido del pesasustancias se introdujo en un cartucho de extracción de celulosa Albet® 900 (Filalbelt, Barcelona, España) con dimensiones de 22 x 80 mm que se tapó con algodón. Este cartucho se colocó en la cámara de extracción del equipo (FOSS Soxtec System 2055 Tecator), al que se le adicionó el éter de petróleo. La materia grasa se extrajo durante 2 horas 18 minutos. Después del proceso de extracción, los cubiletes con la grasa se enfriaron en un desecador hasta temperatura ambiente y se pesaron en balanza analítica (m_2).

El cálculo del porcentaje de grasa en la muestra se realizó mediante la siguiente ecuación

$$\% \text{ grasa} = m_2 - \frac{m_1}{m_0} * 100$$

donde:

m_0 = masa de la muestra (g).

m_1 = masa del cubilete (g).

m_2 = masa del cubilete con la grasa extraída (g).

Contenido de sal (determinación de cloruros)

Para la determinación del contenido de sal en las muestras se procedió a la obtención y valoración de un extracto [125]. Se pesó aproximadamente 1 gramo de muestra triturada, posteriormente se homogeneizó mediante un Ultra-turrax T25 (Janke & Kunkel, Staufen, Alemania) con adición de agua destilada para favorecer la disgregación y liberar las sales solubles contenidas en la muestra; luego se enrasó el extracto en un matraz aforado de 100 ml, se filtró todo el contenido del mismo y se determinó la concentración de cloruros presentes en la muestra mediante una valoración argentimétrica de 500 µl del extracto obtenido en el equipo (Chloride analyser modelo 926, Sherwood UK).

El cálculo de la concentración de NaCl en las muestras se realizó mediante la siguiente ecuación:

$$X^{\text{NaCl}} = \frac{L * V * 58,5}{P * 10^6 * 35,5}$$

donde:

L = media de las lecturas del clorurímetro (mg Cl⁻/L).

V= volumen de la disolución (mL).

P= peso de la muestra (g).

X^{NaCl} = g de NaCl / g de muestra (b.h.).

Actividad de agua

Las medidas de actividad del agua (a_w) se realizaron mediante un higrómetro de punto de rocío (DECAGÓN Aqualab CX-2, $\pm 0,003$, Pullman, WA, USA) a 25 °C utilizando muestras trituradas y homogeneizadas de las piezas evaluadas.

Variación de masa

La variación de masa se realizó a distintos tiempos durante la etapa de post-salado, mediante el registro de los pesos, utilizando la siguiente ecuación:

$$\Delta M_t^0 = \frac{M_f - M_1}{M_1}$$

donde,

M_1 = peso de la pieza antes al momento de la recepción (Kg).

M_f = peso de la pieza a cada tiempo de post-salado (Kg).

Una vez conocidos los parámetros fisicoquímicos de los jamones en estudio y al observar que se encontraban por debajo de valores objetivos de sal en comparación con el proceso de salado tradicional [126], se diseñó un experimento en el que se evaluó el efecto del tiempo de salado sobre las tres categorías de materia prima: grasa, magra y semigrasa.

Determinaciones microbiológicas

Análisis microbiológicos

Para las determinaciones microbiológicas se tomaron muestras de los jamones, a partir de las cuales se prepararon diluciones decimales, según se describe en la Norma UNE EN-ISO 6887-3 [127]. Para ello, se pesaron 10 gramos de jamón curado, en pequeños trozos, los cuales se introdujeron en una bolsa de Stomacher a la que se le añadieron 90 mililitros de agua de peptona tamponada estéril (Sharlau, Barcelona, España), homogeneizándose durante un minuto (dilución 10^{-1}). A partir de esta disolución se fueron realizando las diluciones necesarias para el estudio. Los resultados se expresaron como logaritmo de unidades formadoras de colonias por gramo (log ufc/g). Los microorganismos analizados fueron:

Aerobios mesófilos

El método para la determinación de microorganismos aerobios mesófilos se describe en la Norma UNE-EN ISO 4883 [128]. Se realizaron siembras vertiendo 1 mililitro de muestra en las placas Petri a su correspondiente dilución, adicionando Agar Plate Count (Scharlau). Todas las siembras se realizaron por duplicado y las placas se incubaron a 30 ± 1 °C durante 72 horas.

Enterobacterias

El procedimiento utilizado para el recuento de enterobacterias fue el indicado por Pascual y Calderón [129]. A partir de cada una de las series de diluciones decimales se realizaron siembras en doble capa por duplicado. Se sembraron 0,1 mililitros en placas Petri de cada dilución y se vertió el medio de cultivo, agar Violeta Rojo Bilis Glucosa (VRBG, Scharlau) atemperado a 45-47 °C. Tras la solidificación del medio se

volvieron a verter sobre cada placa 3 a 4 mililitros del mismo medio, para evitar crecimiento en superficie, la extensión de las colonias y promover la anaerobiosis. Las placas se incubaron a 37 ± 1 °C durante 18 a 24 horas.

Micrococáceas

Para la determinación de estos microorganismos se utilizó el medio de cultivo MSA (Agar manitol sal, Scharlau). Se sembró 0,1 mililitro de muestra y se incubó durante 72 horas a 30 °C [130].

Bacterias ácido lácticas

La determinación de las bacterias ácido lácticas se realizó siguiendo la norma (ISO 15214) [131]. El medio de cultivo utilizado es el MRS (Agar de Man, Rogosa y Sharpe, Difco). Se sembró 1 mililitro de muestra y se realizó una siembra en doble capa. La temperatura de incubación fue de 37 °C durante 48 horas.

Clostridium sulfito reductores

El método de recuento empleado fue el descrito por Pascual y Calderón [129]. El medio de cultivo utilizado fue agar Sulfito-Polimixina-Sulfadiazina (SPS, Scharlau). Se sembró 1 mililitro de muestra en cada tubo para cada dilución. Se realizó mediante la introducción de la pipeta con el inóculo hasta el fondo de cada tubo y posteriormente se sellaron los tubos con una capa de aproximadamente medio centímetro de parafina estéril a fin de evitar la entrada de aire. Una vez solidificado el medio en posición vertical se incubaron los tubos a 47 °C durante 48 horas.

Halotolerantes

Para la determinación de la flora halotolerante se siguió lo establecido por [132], se utilizó el medio de cultivo Agar Plate Count (Scharlau) más 7% de NaCl. Se realizaron siembras vertiendo 1 mililitro de muestra en las placas Petri a su correspondiente dilución y por duplicado. Las placas se incubaron a 30 ± 1 °C durante 72 horas.

Determinaciones Electrónicas

Descripción de equipos y obtención de medidas

Se realizaron medidas sobre piezas de distintas categorías según la clasificación establecida por la empresa (graso, magro y semigraso), provenientes de lotes diferentes, utilizando equipos de espectroscopia de impedancia, potenciometría y voltimetría de pulsos, desarrollados y diseñados en el departamento de Ingeniería Electrónica de la Universidad Politécnica de Valencia.

Espectroscopia de impedancia

Se utilizó un equipo electrónico de bajo coste y de carácter no destructivo (Figura 3, izquierda) capaz de realizar medidas de impedancia, programado con una aplicación de *software* en PC y una interfaz de usuario de manejo sencillo, con un espectrómetro de impedancia Autolab PGSTAT100 + módulo FRA1 de Echo Chemie con analizador de respuesta en frecuencia 1255B de Solartron Analytical y analizador de impedancia 429^a de Alginet-HP. El equipo se calibró mediante redes RC, obteniendo una buena reproducibilidad (4,5 de desviación máxima de los datos experimentales con respecto al promedio) y una gran exactitud (2,15 de error máximo) [120].

Descripción y dimensiones de la sonda

Como sonda de medida o electrodo se utilizó el denominado electrodo doble (Figura 12, derecha), diseñado en el laboratorio de Microelectrónica Híbrida del Departamento de Ingeniería Electrónica del Instituto de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico, el que mostró un buen desempeño en estudios previos [133][134], y de fácil manejo sobre tejidos crudos y curados de animales. El electrodo doble estaba formado por dos agujas paralelas de acero, de 1 mm de diámetro por 15 mm de longitud efectiva, y una separación entre estas de 10 mm.

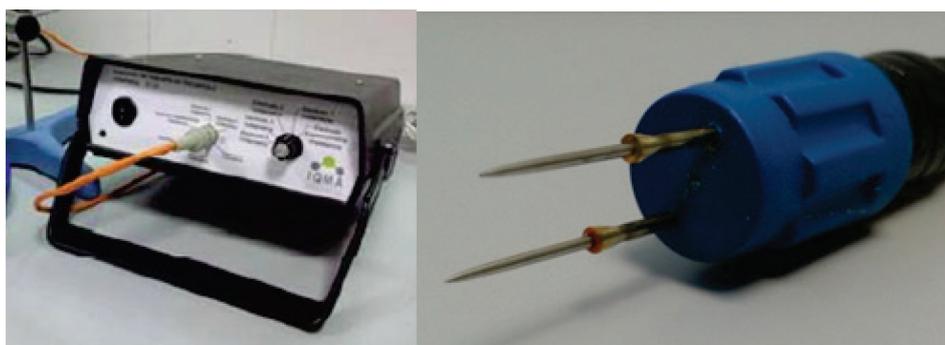


Figura 12. Equipo de espectroscopia de impedancia (izquierda) y sonda de electrodo doble (derecha).

b

El proceso de medida

El proceso de medida consistió en pinchar sobre la muestra el electrodo doble durante aproximadamente dos minutos, limpiando las agujas después de cada medida con agua destilada y etanol y secándose cuidadosamente para dejar el sistema en condiciones óptimas para realizar la siguiente medida. Durante el tiempo de medida se aplicaron 50 frecuencias en un intervalo comprendido entre 1 Hz hasta 1 MHz.

Potenciometría

Se utilizó el equipo de potenciometría (Figura 13, izquierda) formado por una etapa de amplificación de muy alta impedancia de entrada y de muy baja corriente de polarización, elaborada con amplificadores electrométricos LMC6001 y filtros para rechazar las señales. El equipo estaba conectado a un ordenador con un *software* VEE Pro (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) y una tarjeta PCI-9112 Adlink que permitían visualizar, monitorizar y registrar gráficamente los valores obtenidos a tiempo real.



Figura 13. Equipo potenciométrico (izquierda), multielectrodo con forma de “cala” (centro), multielectrodo en forma de corona (derecha).

Descripción y dimensiones de la sonda (multielectrodo)

Se utilizaron electrodos insertados en varillas metálicas con punta en ángulo de aproximadamente 50° para facilitar la entrada de los electrodos en las muestras (Figura 13, centro). Los metales utilizados como electrodos fueron seleccionados con base en estudios realizados previamente [121]. Las sondas tuvieron las siguientes dimensiones: diámetro exterior 6 mm, diámetro de cada electrodo 1 mm, distancia entre electrodos 1 mm, longitud de las varillas 110 mm. Cada multielectrodo estaba compuesto por tres electrodos de metales no nobles: uno de plata (Ag), uno de cobre (Cu) y uno de níquel (Ni).

En el ensayo realizado a diferentes tiempos de post-salado se utilizó también un multielectrodo adicional, en forma de corona, que contenía electrodos compuestos por metales nobles: oro (Au), iridio (Ir), rodio (Rh) y platino (Pt) (Figura 13, derecha) y cuyas dimensiones fueron de 1 mm de diámetro por 15 mm de longitud efectiva, y la separación entre los electrodos, de 7 mm.

El proceso de medida

Las mediciones electrónicas se realizaron en la matriz sólida de las piezas frescas, saladas y curadas. El proceso de medida consistió en pinchar las dos sondas y el electrodo de referencia (Calomelanos) simultáneamente sobre la pieza, la cual entraba en contacto con la muestra mediante una disolución salina de KCl 3M (figura 14). La profundidad de penetración de los electrodos se mantuvo constante a 5 cm en todas las mediciones. El tiempo de medida fue aproximadamente de 14 minutos a intervalos de 2 segundos (el intervalo de tiempo se decidió experimentalmente).

Proceso de limpieza

El multielectrodo que contenía los metales no nobles, en forma de “cala”, se limpió mediante pulido con lija gruesa (referencia 011K de 3M) y posteriormente con lija fina (referencia 213Q de 3M). En el caso del electrodo de corona que contenía los metales nobles, debido a su geometría, se limpió sumergiéndolo en una solución de limpieza 3:2 de H_2SO_4 y H_2O_2 , pasándose posteriormente por agua destilada para eliminar los restos de la solución de limpieza.



Figura 14. Obtención de medidas potenciométricas sobre jamón curado.

Voltametría de pulsos

El equipo utilizado estaba compuesto por un potenciostato (Figura 15, izquierda), una aplicación de *software* ejecutada desde un PC, un electrodo de referencia (Ag/AgCl 3M KCl) y un multielectrodo (Figura 15, derecha) [122]. El multielectrodo estaba conectado mediante cables eléctricos que lo comunicaban a una caja de relés, permitiendo que cada electrodo de trabajo actuara separadamente.

El patrón de pulsos voltamétricos de 20 pulsos con 50 medidas por pulso por electrodo fue diseñado a partir de la composición química de la muestra y de las propiedades de los electrodos de trabajo. Así, el equipo tenía la capacidad de generar una secuencia de hasta 50 pulsos con una amplitud que se podía configurar para cada pulso. Para cada electrodo de trabajo se recogieron un total de 1.000 datos correspondientes a la

evolución temporal de la señal de corriente, por lo que un total de 4.000 valores fueron recogidos por el sistema para cada muestra.



Figura 15. Equipo voltamétrico (izquierda) y multielectrodo (derecha).

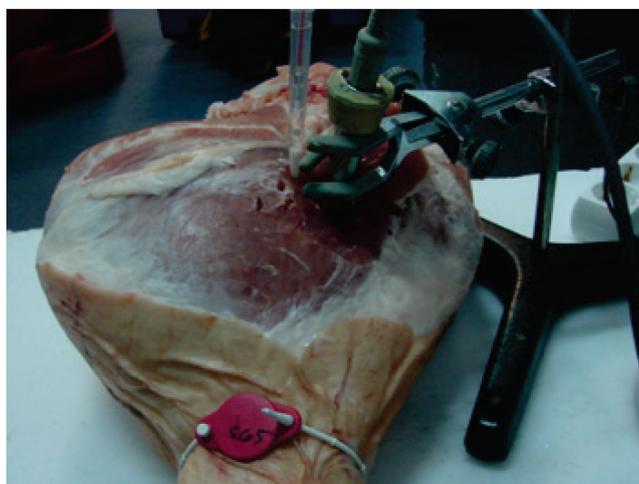


Figura 16. Obtención de medidas voltamétricas sobre pernil de cerdo.

Descripción y dimensiones de la sonda (multielectrodo)

Se utilizó un multielectrodo compuesto por cuatro electrodos de trabajo, de 1 mm de diámetro, hechos de los siguientes metales: iridio (Ir), rodio (Rh), platino (Pt) y oro (Au), con una pureza del 99,9% (Aldrich). El conjunto estaba inserto en un cilindro de acero inoxidable, a una distancia entre ellos de 5 mm, que actuaba como contraelectrodo (de 18 mm de diámetro externo y 100 mm de largo), el cual resguardaba los electrodos de trabajo que se encontraban inmersos en un polímero epoxi 1122a, de tal manera que solamente estaban expuestos al exterior los extremos de los electrodos.

El proceso de medida

El proceso de medida consistió en colocar los electrodos de trabajo y el de referencia sobre la muestra, asegurándose que el contacto electrodo-matriz fuese adecuado, ya que la señal de corriente estaba directamente relacionada con la superficie de contacto. El tiempo de medida fue aproximadamente de cuatro segundos. Después de cada medida se realizó la limpieza del electrodo acondicionándolo para realizar otra medida.

Proceso de limpieza

La limpieza de los electrodos se realizó mediante un pulido con lija fina (referencia 213Q de 3M) y agua destilada a fin de eliminar de la superficie de los metales que conforman el electrodo los posibles residuos de la medición anterior. Adicionalmente, se realizó un pulido con alúmina (referencia: 319767:25g Aldrich) para descartar irregularidades presentes en los electrodos, siendo finalmente limpiados con etanol para eliminar restos de grasa, quedando el sistema en condiciones óptimas para realizar la siguiente medida.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fisicoquímicos y microbiológicos dependiendo del caso fueron analizados a partir del análisis de la varianza (ANOVA simple o multifactorial), con un nivel de confianza del 95%. Dado que el tamaño de muestra en cada ensayo, y con el fin de identificar la existencia de diferencias para las determinaciones fisicoquímicas y microbiológicas entre las diferentes categorías, establecidas en cada caso, se realizaron análisis de comparación de medias. El análisis fue realizado con el paquete estadístico Statgraphics centurión XVI. (Manugistics Inc., Rockville, MD, EE.UU.).

Después de la adquisición de los datos electrónicos se realizó el proceso de filtrado. Se eliminaron las señales que presentaron comportamientos anómalos resultantes del proceso de medida, por ejemplo, un mal contacto entre las sondas y el pernil debido a la rapidez del trabajo, puesto que estas medidas se efectuaron en planta. Seguidamente, se realizaron análisis de componentes principales (PCA) para visualizar la información y eliminar las medidas que quedaron por fuera del intervalo de confianza (95%).

El análisis de los resultados electrónicos se realizó, como se ha mencionado en la introducción, por medio del empleo del análisis estadístico multivariante. Según el caso, se utilizó el análisis de componentes principales (PCA), el análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) o la regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS). Para ello se utilizó el paquete estadístico PLS Toolbox 6.3 (Eigenvector Research Inc., Wenatchee, Washington, USA), una extensión dentro del programa Matlab 7.6 computational environment (The Mathworks, Natick, Massachusetts, USA).

Los análisis de componentes principales (PCA) fueron utilizados con el fin de observar las posibles relaciones existentes entre las distintas categorías de las piezas y entre las variables con base en los resultados de las medidas electrónicas. Este análisis permite expresar un grupo de variables con el menor número de componentes principales, quedando reflejada la máxima variabilidad de las mismas, siendo una técnica estadística de compresión de variables.

El análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) se utilizó con la finalidad de obtener modelos de clasificación que permitieran discriminar si las respuestas electrónicas eran lo bastante robustas para predecir el comportamiento (clase) de una muestra no evaluada.

El análisis de regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS) fue utilizado para evaluar la correlación entre las dos matrices de datos a analizar (datos electrónicos y fisicoquímicos) y obtener un modelo de predicción que pudiese expresar dicha correlación. Tanto en el caso del estudio de PLS-DA como del PLS se utilizó un método de validación cruzada aleatoria. Se llevó a cabo el uso de subconjuntos a partir de muestras aleatorias ($n/9$) para probar el modelo desarrollado, siendo n el número total de muestras, y se realizaron tres iteraciones para lograr modelos más fiables [135].

Para seleccionar la información de las señales eléctricas que más información aportaran a los modelos desarrollados (bien, para reducir el ruido que podía aportar el resto de la señal o para mejorar el modelo a fin de hacerlo más rápido) se utilizó el algoritmo genérico de intervalos de selección iPLS [136] e iPLS-DA.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE SALADO EN BANDEJA REALIZADO POR LA EMPRESA COLABORADORA

4.1.1. Caracterización del producto procesado por la empresa colaboradora (producto curado)

Con la finalidad de evaluar el producto desarrollado por la empresa colaboradora se procedió al análisis de 15 jamones curados (cinco grasos, cinco magros y cinco semigrasos) elaborados según su protocolo y con una merma final acumulada de aproximadamente un 35%. Para ello se analizaron los contenidos en humedad (X^w b.s. s.g.), en grasa (X^G b.s. s.g.), en cloruro sódico (X^{NaCl} b.s. s.g) y los valores de actividad de agua (a_w) (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos de las muestras de jamones curados. Valores promedios \pm SD de las tres categorías: magra, semigrasa y grasa.

Categoría	X^w b.s. s.g.	X^G b.s. s.g.	X^{NaCl} b.s. s.g.	a_w
Grasa	2,312 \pm 0,241 ^a	0,219 \pm 0,036 ^b	0,076 \pm 0,007 ^b	0,891 \pm 0,01 ^b
Magra	2,205 \pm 0,248 ^a	0,147 \pm 0,024 ^a	0,062 \pm 0,007 ^a	0,914 \pm 0,01 ^a
Semigrasa	2,162 \pm 0,248 ^a	0,184 \pm 0,043 ^{ab}	0,061 \pm 0,001 ^a	0,922 \pm 0,00 ^a
α	n.s.	*	*	**

Nivel de significancia (α): n.s.: no significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Letras iguales dentro de la misma columna indican la pertenencia a grupos homogéneos; letras distintas indican la existencia de diferencias significativas.

Como se observa en la Tabla 3, no se presentaron diferencias significativas ($p\text{-value}>0,05$) para el contenido en humedad. Para el parámetro del contenido en grasa sí se observaron diferencias significativas ($p\text{-value}<0,05$) entre los jamones magros que presentaron los menores contenidos de grasa y los jamones grasos con los mayores niveles de grasa. Los jamones semigrasos presentaron valores intermedios. Este resultado verificó la clasificación visual realizada por la empresa.

En cuanto al contenido en sal, los jamones de la categoría grasa presentaron mayor concentración de sal en relación con las piezas magras y semigrasas, presentándose diferencias significativas ($p\text{-value}<0,05$). Dado que el tiempo de salado fue común para los tres tipos de materia prima, el resultado correspondió a lo previsto, ya que a mayor contenido en grasa, menor proporción de magro y por tanto de agua. Los valores de sal alcanzados por los tres tipos de jamones quedaron por debajo del nivel objetivo $X^{\text{NaCl}}=0,092 \pm 0,013$ [126] establecido por otros autores. Teniendo en cuenta este nivel de sal se propuso hacer un estudio de salado para observar el comportamiento de los diferentes tipos de materia prima, aumentando el tiempo de salado, pero manteniendo las demás condiciones del proceso de manera constante.

4.1.2. Caracterización del salado en bandeja

Con la finalidad de conocer las características de la materia utilizada por la empresa colaboradora para la elaboración de jamón curado, inicialmente se procedió a realizar una caracterización microbiológica, la medición del pH y el contenido de grasa, debido a que uno de los parámetros de clasificación de la materia prima utilizada por la industria

hace referencia a la cantidad de grasa, y, como se vio en el apartado anterior, el contenido en grasa influye en la concentración de sal del jamón. La Tabla 4 muestra los valores promedio y su desviación estándar para los resultados obtenidos de la carga microbiana y las mediciones de pH de los perniles evaluados.

Los recuentos para enterobacterias y clostridium sulfito reductores no se ven reflejados en la tabla debido a que estuvieron por debajo del límite de detección. La ausencia de enterobacterias mostró que la empresa mantenía buenas condiciones higiénico sanitarias. Los recuentos observados para los microorganismos aerobios mesófilos, la flora ácido láctica y las bacterias micrococáceas no representaron riesgo sanitario para el producto, dado que estos microorganismos se encuentran normalmente en carnes crudas. Los valores del pH obtenidos, $5,8 \pm 0,284$, si bien fueron algo heterogéneos, en promedio estuvieron en el rango establecido como óptimo ($5,8 < \text{pH} < 6,2$) para el consumo de la carne, ya sea en estado fresco o para ser transformada en un producto cárnico como es el caso del jamón curado [137]. Según diferentes autores, es recomendable no utilizar jamones que posean un $\text{pH} > 6,2$ [138], por razones de seguridad microbiológica [139], ya que incrementa el porcentaje de jamones deteriorados [140].

Tabla 4. Determinaciones microbiológicas y pH de las muestras. Valores promedio \pm SD.

Aerobios mesófilos	Flora ácido láctica	Mirococáceas	pH
2,698 \pm 0,923	0,840 \pm 0,805	0,712 \pm 0,870	5,89 \pm 0,284

La Tabla 5 muestra las medias y la desviación estándar para el contenido de grasa. Se obtuvieron diferencias significativas ($p\text{-value} < 0,05$) en el

contenido de grasa para las tres categorías de pernils utilizados: magros, semigrasos y grasos, confirmando la clasificación establecida por la empresa.

Tabla 5. Contenido de grasa para las distintas materias primas utilizadas por la empresa colaboradora, valores promedios \pm SD.

Categoría	\bar{X}^G b.s. s.g.	α
Grasa	0,202 \pm 0,056 ^a	*
Magra	0,135 \pm 0,038 ^b	*
Semigrasa	0,177 \pm 0,050 ^c	*

Nivel de significancia (α): * $p < 0,05$.

Letras iguales dentro de la misma columna indican la pertenencia a grupos homogéneos.

Una vez caracterizada la calidad de la materia prima se procedió a realizar el estudio de salado para evaluar el tiempo óptimo de éste en función del tipo de materia prima. Para ello se utilizaron 72 pernils a diferentes tiempos (12, 16, 20 y 25 días). Para cada tiempo se salaron seis piezas de cada tipo de materia prima (grasa, magra y semigrasa). Se realizó el salado en bandeja, tal como lo realiza habitualmente la empresa, procedimiento que, junto con el sistema automático incorporado a la línea de producción, tiene como objetivo aumentar el control del proceso de elaboración del jamón curado, además de facilitar la organización de las piezas en función de los tiempos de salado. Esto permitió organizar fácilmente el ensayo de salado propuesto, manteniendo las piezas seleccionadas en las mismas cámaras y bajo idénticas condiciones de producción.

El análisis de sal de las piezas mostró que existieron diferencias significativas (p -value $< 0,05$) entre los niveles de sal para los pernils

salados durante 12 días y el resto de los tiempos de salado, sin importar su categoría (Figura 17). Sin embargo, al comparar entre los diferentes niveles de sal para cada tipo de materia prima y tiempo de salado, se apreció que al aumentar el contenido graso de las piezas las diferencias en el contenido de sal se redujeron con mayor rapidez. Así, los perniles grasos a partir del día 16 no presentaron diferencias entre ellos. En el caso de las piezas semigrasas y magras, la incorporación de sal se equilibró a partir de los 20 días (aunque estadísticamente las diferencias para las semigrasas existieron a partir de los 16 días de salado). Tal resultado muestra que este tipo de salado puede incrementar el fenómeno de saturación de la zona más periférica del pernil durante el salado (el cual se da con mayor prontitud en las piezas más grasas, al presentar menor cantidad de agua), siendo a partir de los 1,33 días/Kg pernil graso y 1,66 días/Kg pernil magro o semigraso cuando se aprecia la saturación.

Cuando se compararon los valores de sal entre la materia prima, para cada tiempo, se vio como las piezas grasas presentaron una mayor concentración salina durante los primeros 12 y 16 días de salado, no evidenciándose diferencias entre los perniles semigrasos y los magros. Así, y teniendo en cuenta que el objetivo de incorporación de sal para asegurar un producto final de buena calidad es de $0,09 \pm 0,013 \text{ g Cl/g}$ en base seca sin grasa [126], se obtuvo que las piezas grasas alcanzaron el nivel objetivo de sal entre los 12 y 16 días de salado. En cambio, en el caso de los perniles magros y semigrasos el tiempo de salado tendrá que ser superior a los 16 días para asegurar que la totalidad las piezas alcancen el nivel objetivo de sal. Por tanto, teniendo en cuenta que el peso inicial de los perniles estaba alrededor de $11,5 \pm 1 \text{ Kg}$, se puede afirmar que el ratio de salado de los perniles magros y semigrasos se establecería en 1,34 días/Kg de pernil, y en el caso de las piezas grasas en

1,16 días/Kg de pernil, tiempos que concuerdan con lo establecido para el salado tradicional de pernils (1-1,5 días/Kg) [141][142].

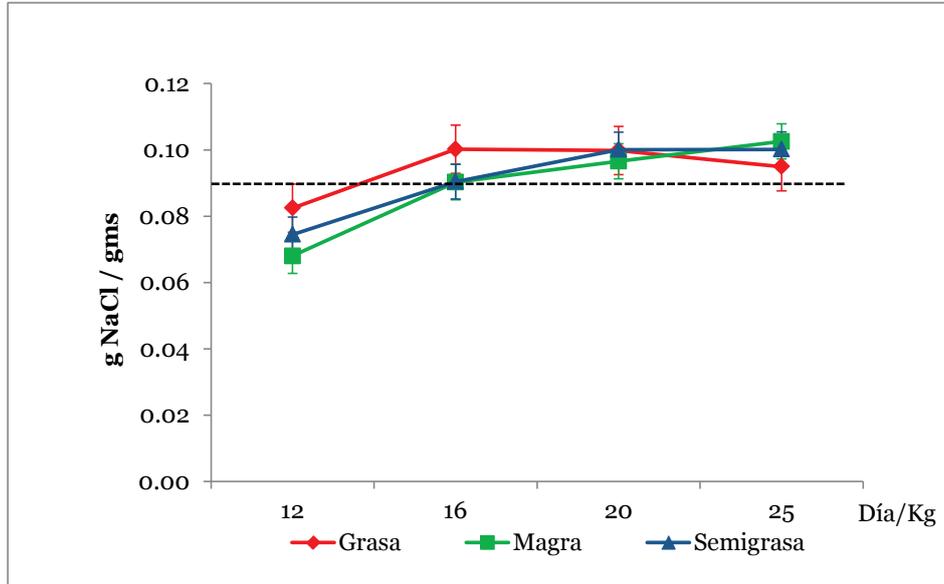


Figura 17. Sal en base seca sin grasa (X^{NaCl} b.s. s.g.) en función del tiempo de salado 12, 16, 20 y 25 días, para las tres materias primas en estudio. Valores promedio y barras de desviación estándar.

4.2. ESTUDIO DE LA VIABILIDAD DE SENSORES ELECTRÓNICOS EN EL PROCESADO DEL JAMÓN CURADO

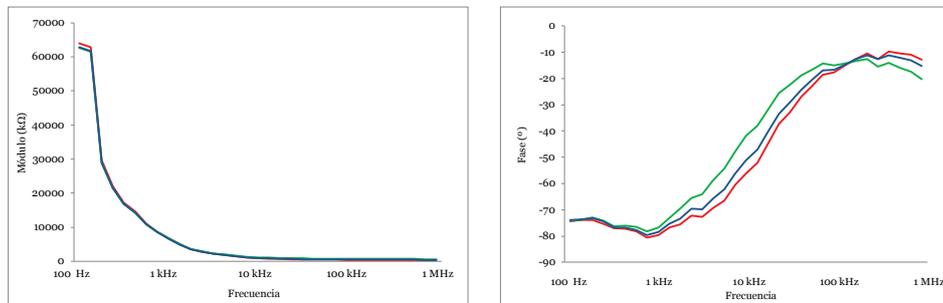
4.2.1. Estudio de la viabilidad de sensores electrónicos para la diferenciación de distintos tipos de materia prima

Una vez caracterizado el salado y la materia prima utilizada por la empresa, se procedió a efectuar los análisis de las señales obtenidas con los distintos equipos electrónicos en estudio. Se evaluó la capacidad de control de cada uno de los sensores de espectroscopia de impedancia,

potenciometría y voltametría de pulsos para discriminar la materia prima con base en el contenido graso. Para ello se evaluaron 60 perfiles (20 de cada tipo de materia prima) a los que se les realizaron mediciones con las sondas. Las piezas analizadas electrónicamente se emplearon para ser procesadas ya que las determinaciones electrónicas no son destructivas.

4.2.2. Espectroscopia de impedancia

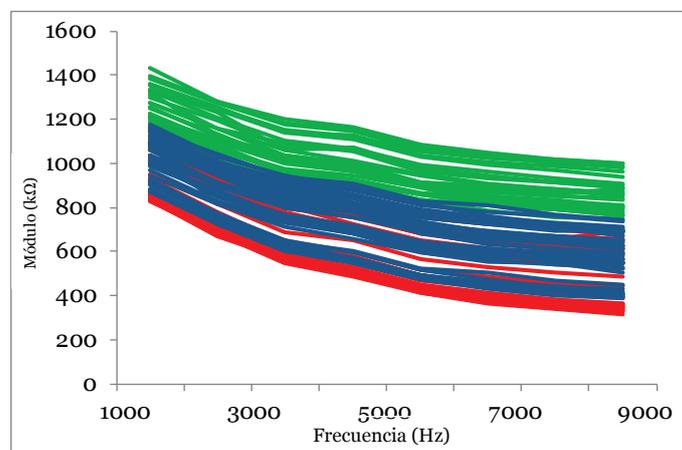
Las respuestas obtenidas para este sensor fueron el resultado de un barrido de 256 puntos para cada una de las frecuencias entre 1 Hz y 1 MHz. A partir de los valores de corriente y de tensión resultantes, el equipo realiza un análisis de Fourier calculando la amplitud y la fase de los datos, dando como resultado los valores de módulo y fase para todas las frecuencias. La Figura 18 muestra las medias de la señal de impedancia para los valores de módulo y los de la fase de las frecuencias entre 100 Hz y 1 MHz. De acuerdo con los estudios realizados por otros autores [134][143], se recomienda eliminar valores inferiores a 100 Hz y superiores a 1 MHz de las frecuencias de la espectroscopia de impedancia para el análisis estadístico, a fin de eliminar la presencia de ruido (parte de la señal que se genera como consecuencia de factores externos pero que no están vinculados a la muestra).



Materia prima: grasas (—), magras(—) y semigrasas (—).

Figura 18. Media de las frecuencias seleccionadas, módulo (izquierda) y fase (derecha) de la señal de impedancia para las muestras evaluadas.

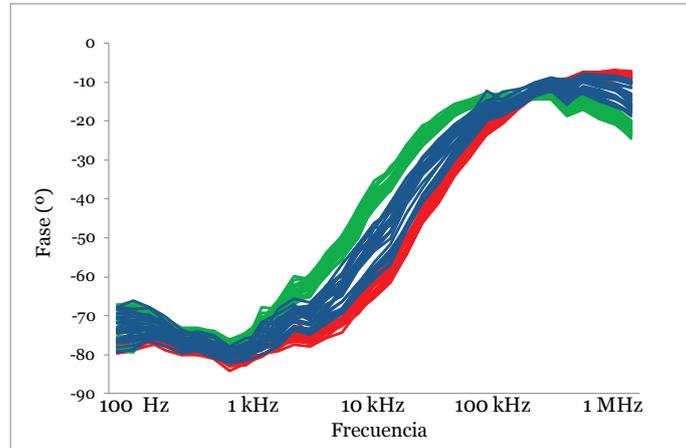
Al observar los valores de módulo en la Figura 18 (izquierda), no se aprecian diferencias entre las medidas en función del tipo de materia prima, pero al hacer un examen más exhaustivo de las señales se evidencian las diferencias. En la Figura 19 se muestra, a modo de ejemplo, el intervalo comprendido solo entre los 1000 y 8000 Hz, en el cual se perciben agrupaciones, siendo el valor promedio de las piezas magras mayor que el de las semigrasas y grasas.



Materia prima: grasas (—), magras(—) y semigrasas (—).

Figura 19. Media de las frecuencias seleccionadas de la señal de módulo de impedancia para las muestras evaluadas.

En cuanto a los valores de la fase, se observa que la señal de las piezas magras, semigrasas y grasas se diferenciaron entre ellas (Figura 20), siendo los mayores valores los obtenidos por las magras, seguidos por las semigrasas y finalmente las grasas.



Materia prima: grasas (—), magras(—) y semigrasas (—).

Figura 20. Media de las frecuencias seleccionadas de la señal de fase de impedancia para las muestras evaluadas.

Con el propósito de conocer la zona del espectro en la que mejor se diferencian las señales, se realizaron análisis de varianza y de comparación de medias, siguiendo lo propuesto por otros autores [144]. Se realizó un análisis de varianza para los valores del módulo y de la fase de las señales de las materias primas (Tabla 6). Se dividió el espectro en cinco bloques de frecuencias aproximándolas a los 100 Hz, 1 kHz, 10 kHz, 100 kHz y 1 MHz. En la respuesta del módulo se encontraron diferencias significativas entre las materias primas ($p\text{-value} < 0,05$). De los 10 kHz a 1 MHz, el análisis de comparación de medias mostró que para los valores del módulo, en el bloque de frecuencias de 10 kHz, las medias de los tres grupos fueron diferentes entre sí. Las medias de la señal de las piezas magras se diferenciaron de las medias de las señales de las piezas grasas y las semigrasas en los bloques de 100 kHz y 1 MHz.

En los bloques restantes de 100 Hz a 1 kHz no se presentaron diferencias significativas (p-value > 0,05).

Tabla 6. Valores promedio \pm SD para las señales de módulo y fase de espectroscopia de impedancia para los rangos de frecuencias seleccionadas de las diferentes materias primas.

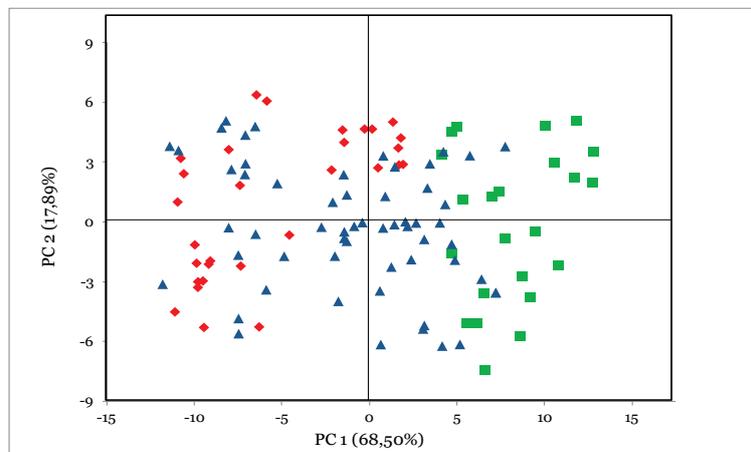
Módulo				
Frec.	Grasa	Magra	Semigrasa	α
100 Hz	63364,76 \pm 963,87 ^a	62006,33 \pm 1066,94 ^a	62227,29 \pm 1088,32 ^a	n.s.
1 kHz	14411,64 \pm 279,68 ^a	14137,16 \pm 297,70 ^a	14072,28 \pm 296,52 ^a	n.s.
10 kHz	1857,80 \pm 55,12 ^a	2033,77 \pm 54,61 ^b	1873,83 \pm 55,18 ^c	***
100 kHz	545,63 \pm 66,65 ^a	855,92 \pm 69,37 ^b	627,93 \pm 73,42 ^a	***
1 MHz	427,63 \pm 59,35 ^a	684,96 \pm 61,08 ^b	497,31 \pm 63,77 ^a	***
Fase				
100 Hz	-74,05 \pm 4,25 ^a	-74,06 \pm 4,17 ^a	-73,72 \pm 3,99 ^a	n.s.
1 kHz	-77,32 \pm 1,78 ^a	-75,50 \pm 1,80 ^a	-76,53 \pm 1,80 ^a	n.s.
10 kHz	-65,60 \pm 4,90 ^a	-54,99 \pm 5,19 ^b	-61,86 \pm 5,48 ^c	***
100 kHz	-27,06 \pm 4,19 ^a	-19,88 \pm 4,28 ^b	-24,51 \pm 4,36 ^a	***
1 MHz	-11,42 \pm 2,23 ^a	-15,54 \pm 2,38 ^a	-12,59 \pm 2,48 ^a	n.s.

Nivel de significancia (α): n.s.: no significativo; *** $p < 0,001$.

Letras iguales dentro de la misma columna indican la pertenencia a grupos homogéneos; letras distintas indican la existencia de diferencias significativas.

Al analizar el comportamiento de la fase de la señal se encontraron diferencias significativas (p-value < 0,05) entre las respuestas de las tres materias primas de 10 kHz a 100 kHz. El bloque de 100 Hz no mostró diferencias significativas entre las señales de las muestras magras con las de las muestras semigrasas y grasas (p-value > 0,05). Con base en estos resultados se podría afirmar que la región comprendida entre los 10-100 kHz de la frecuencia sería la zona más influyente en la discriminación entre los tres tipos de materia prima.

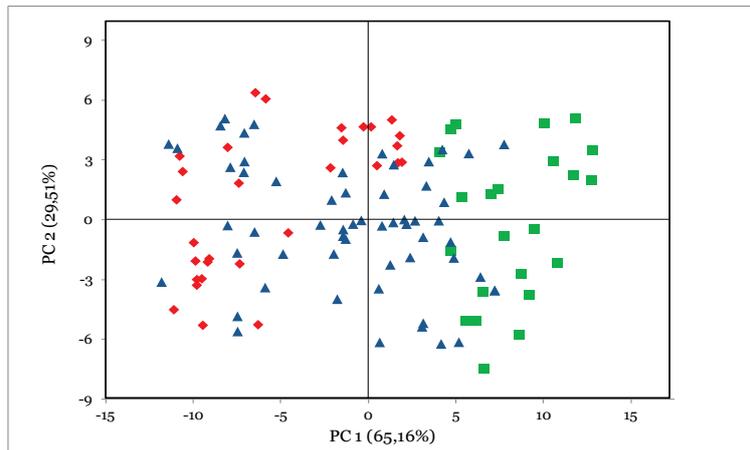
Con la finalidad de realizar un análisis más profundo de la información obtenida y reducir el volumen de esta, se realizaron análisis de componentes principales (PCA) con las frecuencias seleccionadas, para el conjunto de módulo y fase, y para el módulo y para la fase por separado. El análisis de componentes principales (PCA) para los valores de módulo y fase en conjunto mostró que con los cuatro primeros componentes principales se expresó el 94,22% de la varianza, si bien las dos primeras componentes ya expresaron el 86.39% de la varianza (Figura 21). El componente principal 1 (PC1 68,50%) fue el que expresó la mayor agrupación de las muestras, llegando a discriminar entre poblaciones de muestras magras (zona derecha del análisis) de las grasas (izquierda), siendo las semigrasas las que se situaron entre estas dos.



Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

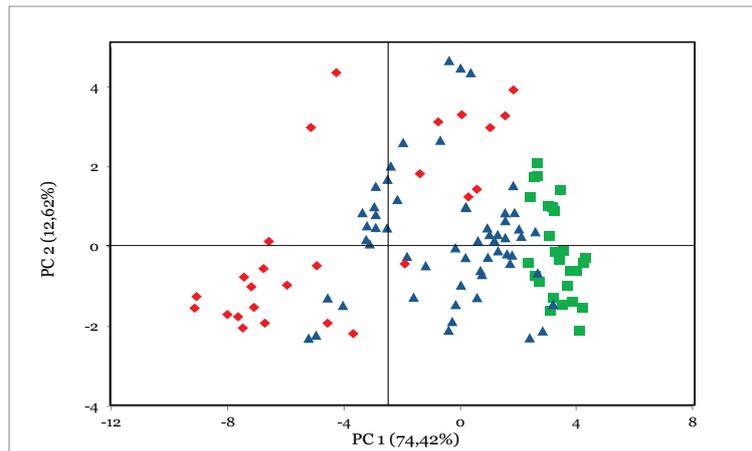
Figura 21. Análisis de componentes principales (PCA) para módulo y fase de los valores de impedancia.

La Figura 22 muestra el análisis de componentes principales (PCA) resultante al utilizar solo los valores del módulo de la señal. Con los dos primeros componentes se explicó un 94,67% de la varianza de las muestras, evidenciándose una agrupación similar a la obtenida utilizando los valores de módulo y fase. Resultado similar se observó al analizar solo los datos procedentes de la fase (figura 23). En este caso con los tres primeros componentes se explicó un 93,33% de la varianza de las muestras, observándose la misma distribución de las poblaciones.



Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 22. Análisis de componentes principales (PCA) para el módulo de los valores de impedancia.



Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 23. Análisis de componentes principales (PCA) para la fase de los valores de impedancia.

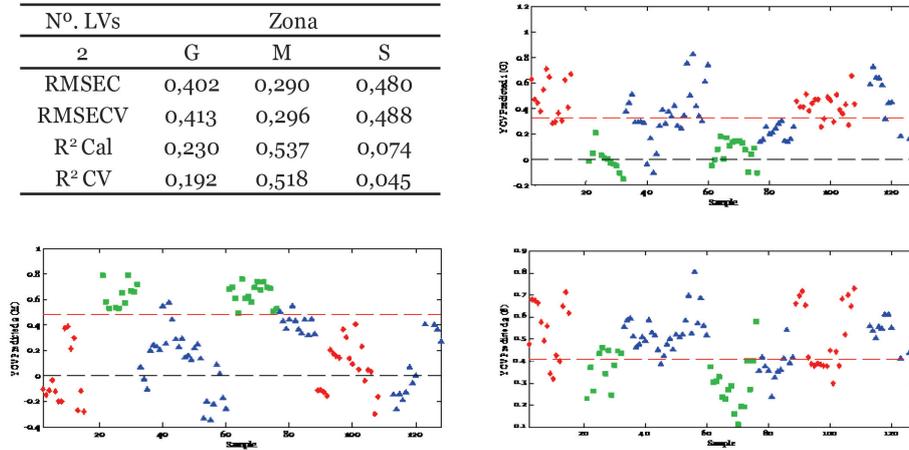
La Tabla 7 muestra el número de componentes principales sugeridos por el programa estadístico, el porcentaje de varianza explicado por cada componente y el acumulado de la varianza con los componentes sugeridos. Los resultados no mostraron un número elevado de componentes principales. Además, el PC1 en todos los casos explicó un porcentaje adecuado de la varianza de las muestras. La disminución en número de componentes al utilizar la información del módulo o la fase de la señal por separado se dio por la reducción de la cantidad de información utilizada para ejecutar el análisis; es decir, la eliminación de aquella información que podría considerarse como ruido, pues estaría enmascarando la información correcta para realizar la discriminación entre las tres poblaciones (tipos de materia prima).

Tabla 7. Resumen para el análisis de componentes principales. Conjunto de valores para módulo y fase y valores por separado para el módulo y la fase.

% de varianza			
PC	Módulo + Fase	Módulo	Fase
1	68,50	65,16	74,42
2	17,89	29,51	12,62
3	4,50		6,29
4	3,33		
Total	94,22	94,68	93,33

Estudios anteriores realizados por otros autores donde se utilizó la técnica de espectroscopia de impedancia mostraron resultados positivos en la evaluación de diferentes propiedades en carne no procesada [109][112][145][146]. En el presente estudio, dada la bondad de los resultados estadísticos obtenidos, se procedió a buscar un modelo matemático que clasificara las muestras. Para ello se realizó un estudio de PLS-DA en el que se obtiene un modelo matemático de clasificación, el cual es testado por muestras que no han participado en el desarrollo del modelo. Como se observa en los resultados estadísticos del PLS-DA (Figura 24), el análisis de PCA explicó un 94,22% de varianza, el análisis de clasificación mostró que solo las piezas magras quedaron clasificadas correctamente ($R^2CV = 0,52$), así como las piezas grasas también fueron diferenciadas de las magras. En cambio, las piezas semigrasas no pudieron ser diferenciadas de las grasas. Es importante considerar que la clasificación de los perniles se hace mediante inspección visual y que algunas de las piezas semigrasas o grasas, clasificadas como tales, podrían haber sido asignadas a ambos grupos dado su contenido en grasa.

Nº. LVs	Zona		
	G	M	S
RMSEC	0,402	0,290	0,480
RMSECV	0,413	0,296	0,488
R ² Cal	0,230	0,537	0,074
R ² CV	0,192	0,518	0,045

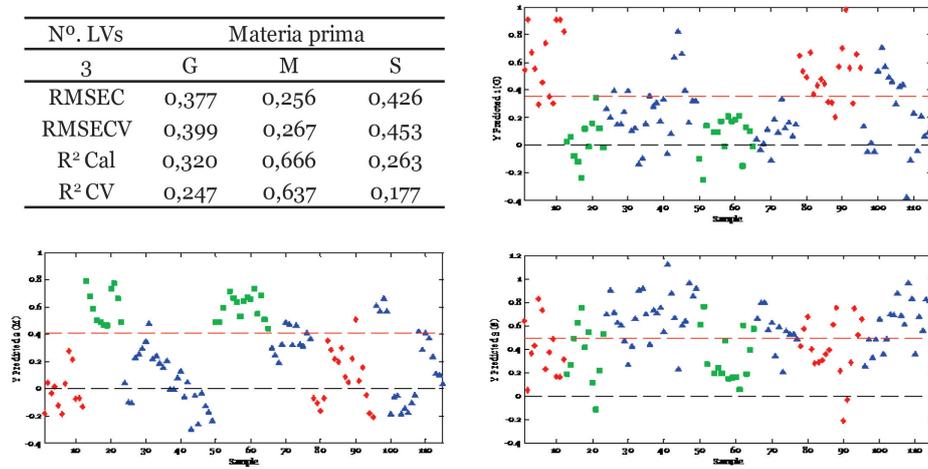


Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 24. Resultados del análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para la totalidad de la señal de espectroscopia de impedancia.

Con base en la clasificación obtenida con el análisis de PLS-DA, entre piezas grasas y magras, y con la finalidad de poder reducir el tiempo de medida y por tanto, el volumen de información manejada, se realizó un análisis iPLS para localizar los intervalos de la señal que generaban la información más relevante. Los resultados obtenidos mostraron que determinadas frecuencias aportaron la mayoría de la información. Entre los 3 y los 20 kHz, y los 80 y 180 kHz, los valores de módulo y fase aportaron la información significativa. Se realizó nuevamente un análisis de PLS-DA con los intervalos seleccionados del módulo y la fase. La Figura 25 muestra los resultados para los intervalos seleccionados. El modelo de predicción mejoró frente a lo obtenido cuando se utilizó la totalidad del espectro, el cual no es suficiente para poder clasificar de forma correcta muestras externas entre los tres tipos de materia prima.

Nº. LVs	Materia prima		
	G	M	S
3			
RMSEC	0,377	0,256	0,426
RMSECV	0,399	0,267	0,453
R ² Cal	0,320	0,666	0,263
R ² CV	0,247	0,637	0,177



Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 25. Resultados del análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para las selecciones obtenidas por iPLSDA de los valores de módulo y fase de impedancia.

Al confrontar los dos métodos utilizados para el análisis de las señales (ANOVA y PCA/PLS-DA/iPLSDA) se observó que la información significativa que diferencia entre la materia prima grasa, magra y semigrasa se encuentra en el intervalo de frecuencias que va desde los 5 kHz hasta los 180 kHz, siendo el resto de la información no apta para la obtención del modelo de clasificación.

Así, mediante la selección de frecuencias se puede llegar a reducir el tiempo de medida que es de dos minutos, cuando se aplica toda la secuencia de frecuencias (de 1 Hz hasta 1 MHz) a 20 segundos utilizando solo el intervalo definido (de 5 kHz hasta 180 kHz).

4.2.3. Potenciometría

Debido al diseño de los equipos y a los metales utilizados para el desarrollo de los electrodos, la información adquirida se generó en dos bloques: el originado a partir de metales nobles [oro (Au), iridio (Ir), rodio (Rh) y platino (Pt)], y el originado a partir de metales no nobles [plata (Ag), níquel (Ni) y cobre (Cu)]. En la Figura 26 se observa la respuesta de potencial de una muestra del estudio cuyos potenciales se encontraron entre los $-0,35$ V y $0,44$ V, siendo el tiempo de adquisición de la señal de aproximadamente doce minutos. Dado que la señal de potenciometría necesita estabilizarse antes de expresar una señal homogénea que caracterice al sistema, se tuvo que determinar el tiempo necesario para llegar a dicha estabilidad antes de empezar con el tratamiento estadístico de los datos. Así, las respuestas de los metales no nobles alcanzaron su valor estacional a partir del sexto minuto de adquisición de la señal, mientras que los metales nobles mostraron una señal estable a partir de los nueve minutos. Por tanto, para hacer el análisis de la información potenciométrica, se utilizó el intervalo de datos obtenidos entre los minutos nueve y doce, para un total de 36 lecturas de potencial para cada electrodo por materia prima.

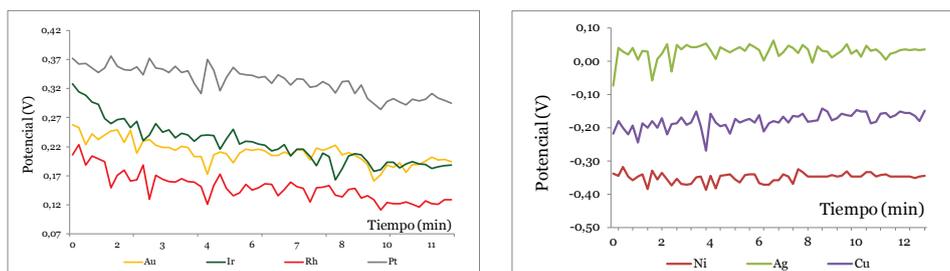


Figura 26. Señal de potenciometría obtenida para una muestra por el conjunto de electrodos. Metales nobles (izquierda), metales no nobles (derecha).

Una vez procesadas las señales adquiridas se procedió a la realización de diferentes análisis estadísticos. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) con los intervalos seleccionados de las señales obtenidas de cada electrodo en función del tipo de materia prima. Se observaron diferencias significativas ($p\text{-value}<0,05$) para los electrodos de iridio (Ir), rodio (Rh) y níquel (Ni). El análisis de medias (Tabla 8) mostró que para el iridio (Ir) se presentaron diferencias entre las medidas de las piezas grasas y las piezas magras, ubicándose las semigrasas entre ambas. El rodio (Rh) y el níquel (Ni) diferenciaron las medias de las piezas grasas de las medias de las piezas magras y semigrasas, que se ubicaron en el mismo grupo. Los electrodos de oro (Au), platino (Pt), plata (Ag) y cobre (Cu) no presentaron diferencias significativas ($p\text{-value}>0,05$).

Tabla 8. Resultados del ANOVA para los valores de potencial para cada uno de los electrodos (valores promedio \pm SD).

Mat. Prima	Grasa	Magra	Semigrasa	α
Au	0,22 \pm 0,06 ^a	0,23 \pm 0,02 ^a	0,18 \pm 0,06 ^a	n.s.
Ir	0,28 \pm 0,11 ^a	0,46 \pm 0,04 ^b	0,35 \pm 0,15 ^{ab}	*
Rh	0,17 \pm 0,07 ^a	0,31 \pm 0,05 ^b	0,27 \pm 0,14 ^b	*
Pt	0,33 \pm 0,09 ^a	0,38 \pm 0,04 ^a	0,33 \pm 0,13 ^a	n.s.
Ni	-0,28 \pm 0,03 ^a	-0,32 \pm 0,02 ^b	-0,31 \pm 0,03 ^b	*
Ag	0,04 \pm 0,01 ^a	0,01 \pm 0,01 ^a	0,03 \pm 0,01 ^a	n.s.
Cu	-0,18 \pm 0,02 ^a	-0,16 \pm 0,02 ^a	-0,15 \pm 0,02 ^a	n.s.

Nivel de significancia (α): n.s.: no significativo; * $p<0,05$.

Al graficar los intervalos seleccionados de las señales potenciométricas para cada electrodo (Figura 27) se observó el comportamiento de las señales para los electrodos nobles, iridio (Ir) y rodio (Rh), los cuales

presentaron diferencias significativas ($p\text{-value} < 0,05$). Los mayores valores de potencial se presentaron en las piezas magras, seguidas de las semigrasas y por último las grasas. De los electrodos no nobles, el electrodo de níquel (Ni) mostró mayores valores de potencial en las piezas grasas que en las piezas magras y semigrasas, las cuales presentaron un comportamiento similar.

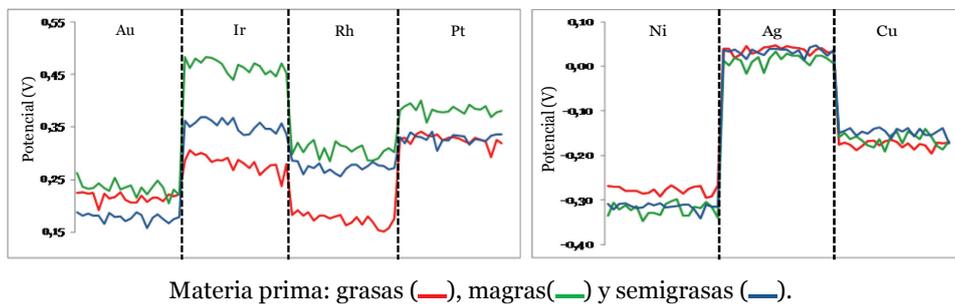
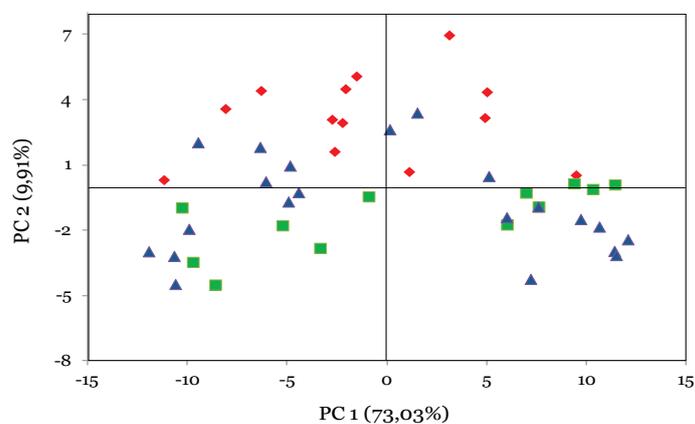


Figura 27. Promedio de las señales potenciométricas generadas por los electrodos de metales nobles y metales no nobles.

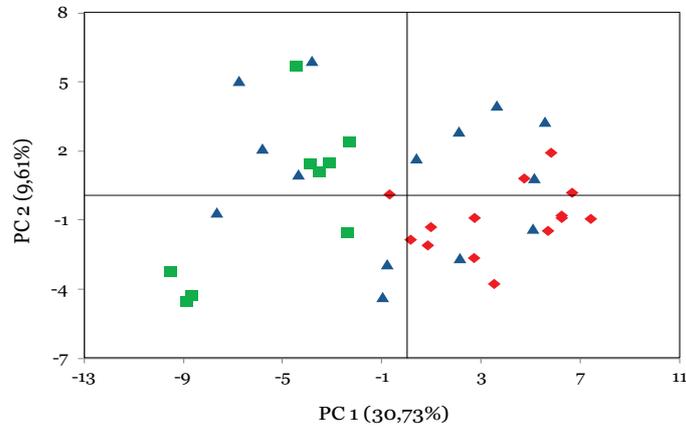
El análisis de componentes principales para los datos de los metales nobles (Figura 28) mostró que con los tres primeros componentes se explicó un 90,18% de la varianza de las muestras. El componente principal 1, con un peso de 73,03%, no generó ningún tipo de agrupación, mientras que el PC2, con un 9,91%, permitió una ligera diferenciación entre las piezas grasas, las cuales se ubicaron por encima del componente; en tanto que las piezas magras se encontraron por debajo. En cuanto a las piezas semigrasas se localizaron a lado y lado del eje formado por el componente 2, solapándose con las piezas de las otras dos categorías.



Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 28. Análisis de componentes principales (PCA) para los valores potenciométricos de los metales nobles.

Al realizar el PCA con los valores de los metales no nobles, se explicó el 52,42% de la varianza de las muestras con los cuatro primeros componentes sugeridos por el análisis. El PC1, con un peso del 30,73%, sugirió una agrupación de las piezas grasas, a la izquierda, y de las magras a su derecha. Al igual que para la información procedente de los metales nobles, en este caso las muestras semigrasas también quedaron agrupadas junto con magras y grasas.

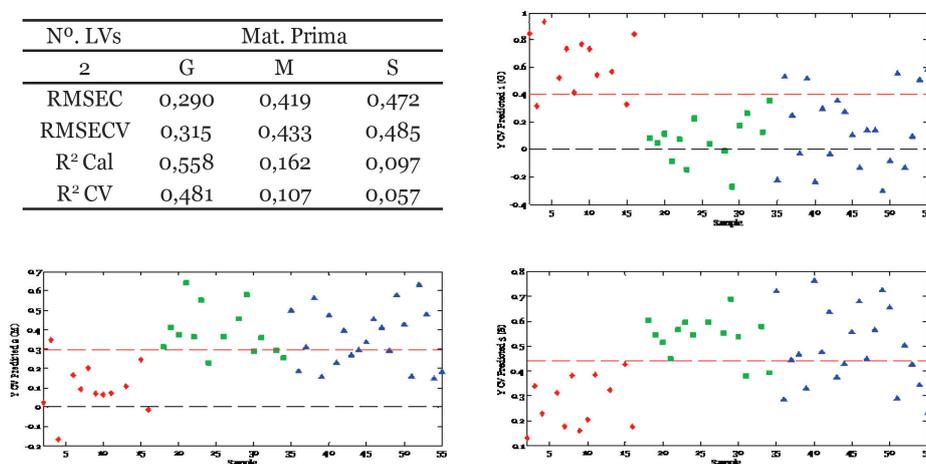


Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 29. Análisis de componentes principales (PCA) para los valores potenciométricos de los metales no nobles.

Se realizó un análisis de PLS-DA para la obtención de un modelo de clasificación con los datos obtenidos de los metales nobles y los metales no nobles por separado, así como del conjunto de ambos (nobles + no nobles) al objeto de aumentar el volumen de la información y procurar mejorar el modelo de predicción. La Figura 30 muestra los resultados del PLS-DA para la señal de los metales nobles en el cual el modelo se generó utilizando solo dos variables latentes. Se observó que las piezas grasas fueron las que mejor se distinguieron ($R^2CV=0,48$) de las piezas magras y semigrasas. En cambio estas dos no pudieron ser clasificadas entre ellas. El análisis de PCA había explicado gran parte de la varianza, al intentar obtener un modelo de clasificación, la información adquirida no permitió diferenciar las piezas magras de las semigrasas, siendo diferenciadas solo de las piezas grasas.

Nº. LVs	Mat. Prima		
	G	M	S
RMSEC	0,290	0,419	0,472
RMSECV	0,315	0,433	0,485
R ² Cal	0,558	0,162	0,097
R ² CV	0,481	0,107	0,057

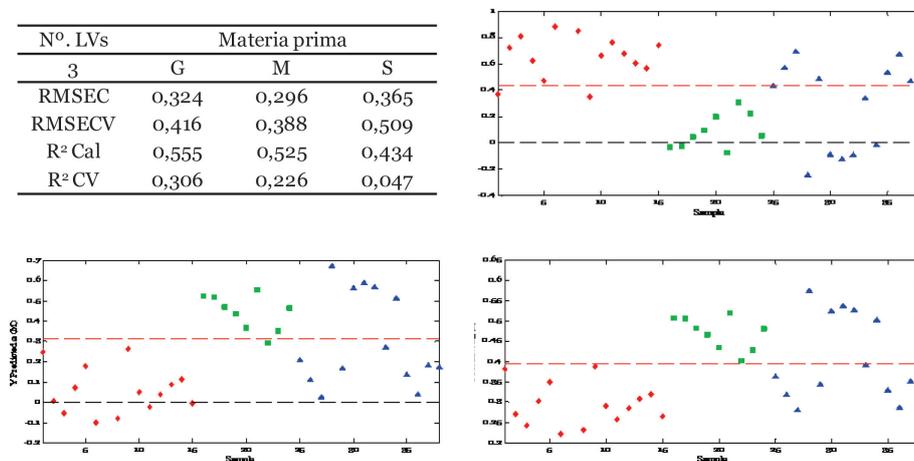


Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 30. Resultados del análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para los valores de potenciometría de los metales nobles.

Al realizar el PLS-DA con los valores de los electrodos de los metales no nobles (Figura 31) se observaron resultados similares a los obtenidos con los metales nobles. Las piezas grasas fueron las que mejor se diferenciaron de las piezas magras y de las semigrasas, no pudiéndose distinguir entre estas dos últimas.

Nº. LVs	Materia prima		
	G	M	S
RMSEC	0,324	0,296	0,365
RMSECV	0,416	0,388	0,509
R ² Cal	0,555	0,525	0,434
R ² CV	0,306	0,226	0,047

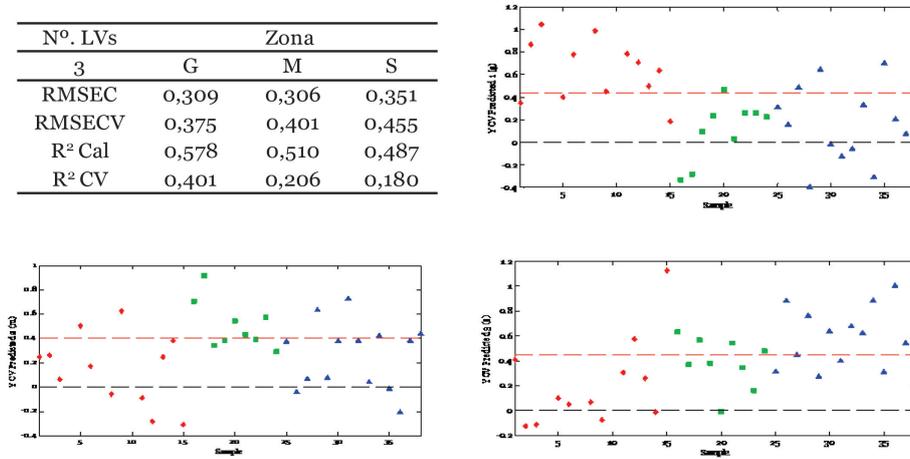


Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 31. Resultados del análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para los valores de potenciometría de los metales no nobles.

Al realizar el análisis de PLS-DA con el conjunto de valores obtenidos con los electrodos nobles y no nobles (Figura 32), los resultados estadísticos de calibración resultaron mejores frente a los obtenidos de manera individual al analizar metales nobles y no nobles. Al ejecutar la validación cruzada se notó que ninguna de las tres poblaciones se clasificó correctamente aunque existió una tendencia en la diferenciación entre las muestras grasas y magras.

Nº. LVs	Zona		
	G	M	S
RMSEC	0,309	0,306	0,351
RMSECV	0,375	0,401	0,455
R ² Cal	0,578	0,510	0,487
R ² CV	0,401	0,206	0,180



Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 32. Resultados del análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para los valores de potenciometría de los metales nobles y no nobles.

4.2.4. Voltametría

Las señales obtenidas con el sensor voltamétrico provinieron de 4.000 datos obtenidos de 4 electrodos, en el que cada electrodo utilizaba un tren de 20 pulsos con 50 medidas por electrodo. La Figura 33 muestra los valores promedios para la señal de voltametría por electrodo para cada una de las categorías de las materias primas utilizadas en el ensayo. El orden de los electrodos de izquierda a derecha fue: oro (Au), iridio (Ir), platino (Pt) y rodio (Rh).

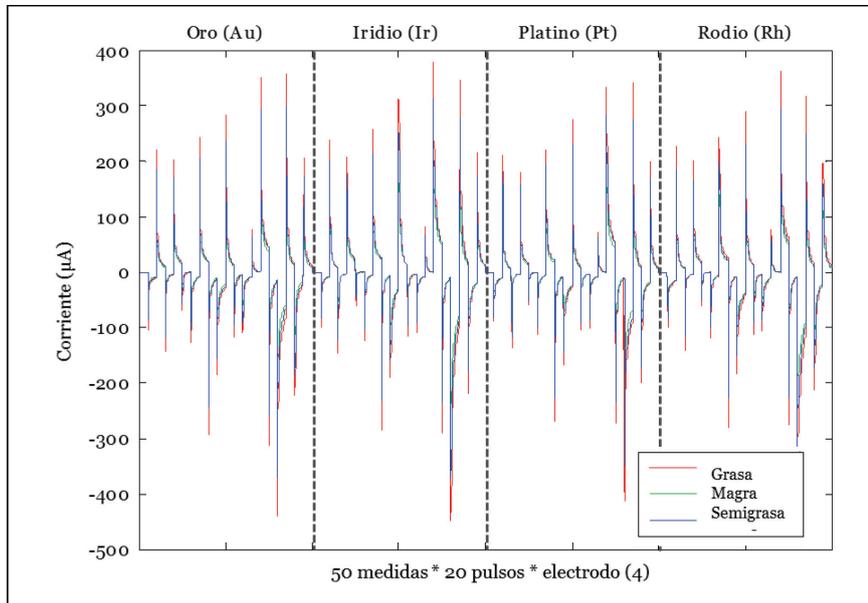
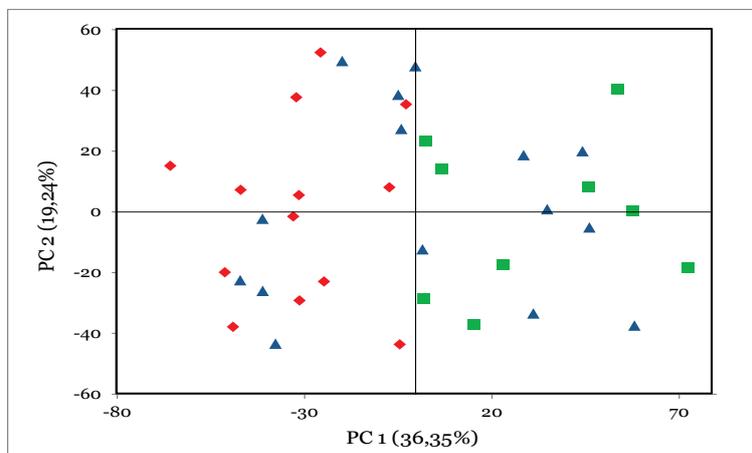


Figura 33. Señal voltamétrica obtenida para cada electrodo (Au, Ir, Pt y Rh) sobre la materia prima.

Se efectuó un análisis de componentes principales PCA con el conjunto total de datos obtenidos con los cuatro electrodos: oro (Au), iridio (Ir), platino (Pt) y rodio (Rh). En la Figura 34 se observa el resultado del análisis para los dos primeros componentes, siendo los cinco primeros componentes los que explicaron un acumulado del 79,33% de la varianza.



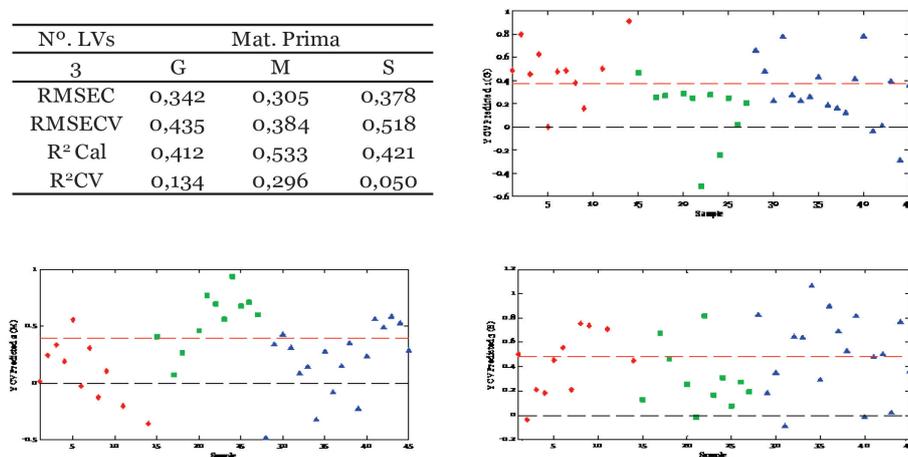
Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 34. Análisis de componentes principales para las medidas de voltametría de pulsos (Au, Ir, Pt y Rh).

El PC1 con un 36,35% de la varianza generó la agrupación de las poblaciones, localizando las piezas magras en la parte izquierda del plano y las grasas en la derecha. En el caso de las semigrasas, estas quedaron localizadas entre las dos anteriores.

A fin de obtener un modelo de clasificación se realizó un análisis de PLS-DA (Figura 35), de la misma manera que se realizó con los sensores evaluados anteriormente. Las piezas magras y grasas fueron las que presentaron mejor diferenciación, pero no fue lo suficientemente alta como para poderla aceptar como efectiva.

N°. LVs	Mat. Prima		
	G	M	S
RMSEC	0,342	0,305	0,378
RMSECV	0,435	0,384	0,518
R ² Cal	0,412	0,533	0,421
R ² CV	0,134	0,296	0,050

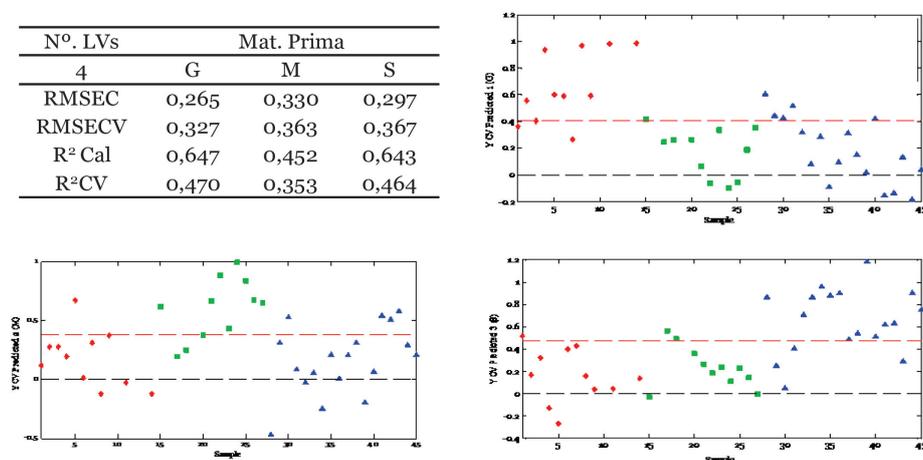


Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 35. Resultados del análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para los valores de voltametría.

Para reducir el volumen de la información y encontrar las zonas más influyentes de la señal, y con el fin de eliminar aquella parte de la señal que pudiese entorpecer el objetivo, se realizó un análisis de selección de intervalos iPLS-DA. Según los resultados obtenidos en este análisis, las variables con mayor importancia se obtuvieron con el electrodo de iridio (Ir) en los pulsos de 600 μA a 0 μA y de -400 μA y con el electrodo de platino (Pt) en los pulsos de 0 μA a 500 μA . Al realizar el análisis de PLS-DA, con los pulsos influyentes obtenidos mediante el análisis de iPLS-DA, se mejoró la clasificación obtenida. La Figura 36 muestra los resultados estadísticos en los que se observó una mejor tendencia para la clasificación de las muestras grasas y semigrasas. Los resultados del análisis no fueron apropiados para utilizar los electrodos seleccionados para clasificar las muestras con base en su contenido graso.

Nº. LVs	Mat. Prima		
	G	M	S
4			
RMSEC	0,265	0,330	0,297
RMSECV	0,327	0,363	0,367
R ² Cal	0,647	0,452	0,643
R ² CV	0,470	0,353	0,464



Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 36. Resultados del análisis de PLS-DA con la selección de intervalos realizada con iPLSDA de los valores de voltametría de pulsos.

4.2.5. Conclusiones (Conclusions)

La clasificación de la materia prima (grasa, magra y semigrasa) para la elaboración de jamones curados realizada por la empresa colaboradora se verificó a partir del contenido graso de las piezas. El estudio del tiempo de salado necesario para alcanzar el valor objetivo de sal, en el salado en bandeja que realiza la empresa, aporta los datos de 1,16 días/Kg de pernil graso y de 1,34 días/Kg de pernil magro o semigraso. Se observó que la utilización de la técnica descrita, a partir de un tiempo determinado de salado (1,33 días/Kg pernil graso y 1,66 días/kg pernil magro o semigraso), mostró la saturación de las zonas más externas del pernil, lo que redujo considerablemente el proceso de salado.

Las agrupaciones generadas por los sensores en estudio (espectroscopia de impedancia, potenciometría y voltametría de pulsos) solamente

permitieron la diferenciación entre piezas magras y grasas. De las técnicas evaluadas, el sensor de espectroscopia de impedancia presentó los mejores resultados de clasificación, permitiendo realizar las medidas con mayor facilidad. Además, con la reducción de tiempo propuesta en el estudio, podría considerarse como una herramienta adaptable al proceso de selección de materias primas para la elaboración de jamón curado. Se hace necesario ampliar los estudios para mejorar la fiabilidad del modelo de clasificación obtenido. Las técnicas de potenciometría y voltametría de pulsos no mostraron resultados satisfactorios, además de emplear un mayor tiempo en el proceso de limpieza de electrodos y realización de medida.

The classification of the raw material (fat, lean and semi-fat) for the manufacturing of dry cured ham, given by the partner company was verified. The obtained ratios for the salting time process were for raw lean and semi-fat pork hams 1,34 day/Kg, and for raw fat hams 1,16 days/Kg. It was observed that the use of the tray salting technique showed a saturation of the outer areas of the pieces after 16 days for fat pieces and 20 days for lean and semi-fat pieces, which greatly reduced the salting process.

The sensors based on impedance spectroscopy, potentiometry and pulse voltammetry techniques were able to discriminate groups between fat and lean pieces. Semi-fat pieces, due to their physicochemical characteristics were randomly placed within groups generated for fat or lean pieces. The impedance spectroscopy sensor showed the best performance, and with the reduction on the length of the measurement suggested in the study, it could be considered as an adaptable sensor for the selection of raw materials for the production of dry cured ham.

Nevertheless, it is necessary to extend the studies to improve the reliability of the obtained classification.

4.3. ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE LOS SENSORES ELECTRÓNICOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LAS PIEZAS DURANTE LA ETAPA DE POST-SALADO

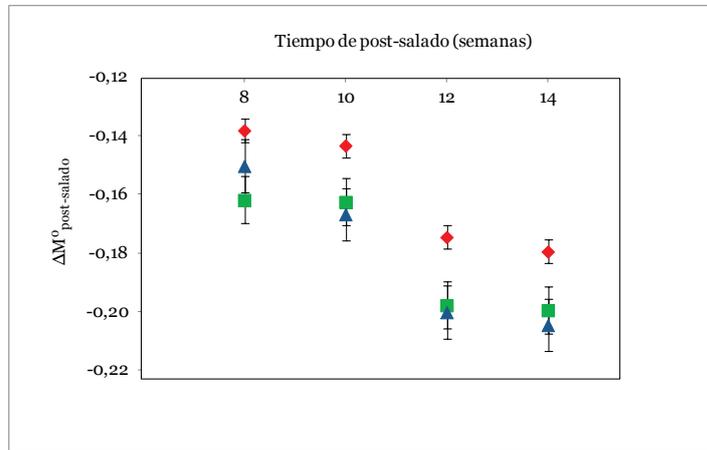
Para el desarrollo del estudio de post-salado se utilizaron las piezas medidas en la etapa anterior (selección de materia prima). Se evaluó la capacidad de los equipos electrónicos para caracterizar los pernils durante esta etapa. Los sensores fueron revisados y ajustados en los laboratorios del departamento de Ingeniería Electrónica de la Universidad Politécnica de Valencia a partir de la información obtenida. En esta etapa se salaron los pernils bajo los ratios de salado establecidos en el punto anterior: 1,16 días / Kg de pernil para aquellos en los que se utilizó materia prima grasa y de 1,34 días/Kg de pernil para los que se utilizó materia prima magra y semigrasa. A diferentes tiempos de post-salado (8, 10, 12 y 14 semanas) se tomaron muestras de las zonas de análisis “A”, “B” y “C”, del corte central de los pernils, las que se evaluaron inicialmente con los sensores electrónicos y posteriormente, tras su picado y homogeneizado, se les realizaron las determinaciones fisicoquímicas. Adicionalmente, se efectuaron determinaciones fisicoquímicas a la zona denominada “R”, obtenida del triturado de la totalidad del magro de las piezas, para conocer el promedio de todo el pernil.

En este estudio se evaluó la influencia del tiempo a las 8, 10, 12 y 14 semanas de post-salado, la influencia del tipo de materia prima utilizada en el ensayo (grasa, magra y semigrasa) y las zonas de análisis “A”, “B” y “C”.

4.3.1. Caracterización fisicoquímica

Variación de masa ($\Delta M^{\circ}_{\text{post-salado}}$)

La variación de masa total a cada tiempo de toma de muestra del post-salado ($\Delta M^{\circ}_{\text{post-salado}}$) se expresó con el parámetro $\Delta M^{\circ}_{\text{post-salado}}$, indicando los kilogramos de masa que varían entre la toma de muestra durante el post-salado y el inicio del proceso de elaboración, respecto a los kilogramos de cada pieza. Al analizar el comportamiento de las mermas de los pernils durante el post-salado, se observó que los pernils grasos redujeron, para cada tiempo de toma de muestra, menos peso que los pernils magros y semigrasos (Figura 37). El valor medio alcanzado al final de la etapa ($\Delta M^{\circ}_{\text{post-salado}}$) para las piezas grasas de $-0,178 \text{ Kg} \pm 0,007$; de $-0,200 \text{ Kg} \pm 0,006$ para las piezas magras, y de $-0,205 \text{ Kg} \pm 0,004$ para las piezas semigrasas. Valores similares fueron encontrados por otros autores en los que el post-salado fue efectuado durante 50 días [20][147].



Materia prima: grasa (◆), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 37. Variación de masa total ($\Delta M_t^0 = \Delta M M^w + \Delta M^{NaCl}$) a las 8, 10, 12 y 14 semanas de post-salado. Valores promedio \pm SD.

Como se observa en la Figura 38, en los tres casos existió un mayor incremento en la pérdida de peso entre las semanas 10 y 12, el cual se produjo como consecuencia de un ligero cambio en la humedad relativa de la cámara. El incremento en la merma de peso de los perfiles aumentó la concentración salina de las zonas más externas y favoreció la difusión de la sal hacia las zonas más internas.

Determinación de la razón másica de grasa (X^G b.s. s.g)

Para expresar el contenido de grasa interna se recurrió al parámetro X^G b.s. s.g., con la finalidad de utilizar una base común en la comparación. La Tabla 9 muestra los resultados de la determinación del contenido de grasa en base seca sin grasa (X^G b.s. s.g.) para las zonas de análisis “A”, “B” y “C”, de los perfiles a las 8, 10, 12 y 14 semanas de post-salado. En general, el contenido graso de las piezas grasas presentó valores más

altos frente a las piezas semigrasas y magras. Al evaluar la diferencia de grasa entre zonas, se notó que la zona “C” suele tener una mayor cantidad de grasa frente a las zonas “A” y “B” como consecuencia de la proximidad de los músculos de la zona “C” a una gran capa de tejido adiposo subcutáneo.

Tabla 9. Grasa en base seca sin grasa (X^G b.s. s.g.), para las zonas de análisis para la materia prima (grasa, magra y semigrasa), valores promedio \pm SD.

Semanas	Mat. Prima	A	B	C
8	G	0,118 \pm 0,014 ^{a1 n.s.}	0,149 \pm 0,033 ^{a1 n.s.}	0,125 \pm 0,035 ^{a1 n.s.}
	M	0,054 \pm 0,036 ^{b1 n.s.}	0,092 \pm 0,023 ^{b1 n.s.}	0,070 \pm 0,031 ^{b1 n.s.}
	S	0,065 \pm 0,070 ^{b1 n.s.}	0,076 \pm 0,071 ^{b1 n.s.}	0,081 \pm 0,087 ^{b1 n.s.}
10	G	0,102 \pm 0,041 ^{a1 n.s.}	0,102 \pm 0,018 ^{a1 n.s.}	0,145 \pm 0,036 ^{a2 n.s.}
	M	0,093 \pm 0,017 ^{a1 *}	0,107 \pm 0,022 ^{a1 *}	0,109 \pm 0,024 ^{b1*}
	S	0,084 \pm 0,016 ^{a1*}	0,101 \pm 0,031 ^{a1*}	0,133 \pm 0,044 ^{a2*}
12	G	0,165 \pm 0,038 ^{a1 n.s.}	0,157 \pm 0,030 ^{a1 n.s.}	0,148 \pm 0,041 ^{a1 n.s.}
	M	0,081 \pm 0,038 ^{b1}	0,108 \pm 0,029 ^{a1}	0,076 \pm 0,045 ^{a1}
	S	0,094 \pm 0,101 ^{b1}	0,115 \pm 0,129 ^{a1}	0,115 \pm 0,134 ^{a1}
14	G	0,127 \pm 0,054 ^{a1,2 n.s.}	0,169 \pm 0,031 ^{a2 n.s.}	0,128 \pm 0,026 ^{a1 n.s.}
	M	0,098 \pm 0,026 ^{b1*}	0,101 \pm 0,022 ^{b1*}	0,116 \pm 0,025 ^{a1*}
	S	0,096 \pm 0,007 ^{ab1*}	0,157 \pm 0,010 ^{b2*}	0,106 \pm 0,035 ^{a1,2*}
α		*	*	*

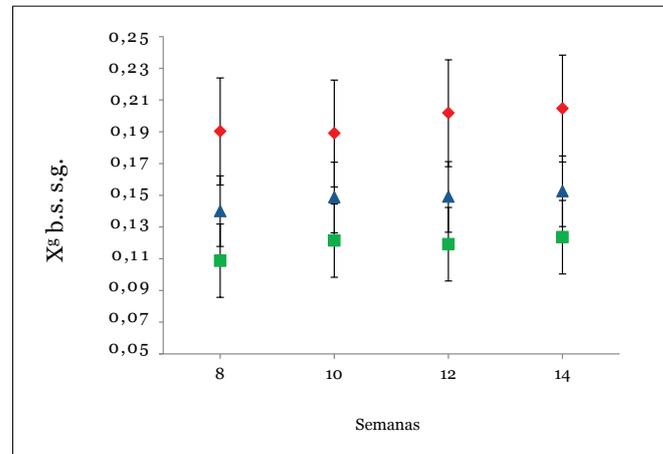
Nivel de significancia (α): n.s.: no significativo; * $p < 0,05$.

Letras iguales dentro de la misma columna indican la pertenencia a grupos homogéneos; letras distintas indican la existencia de diferencias significativas.

Números iguales dentro de la misma línea indican la pertenencia a grupos homogéneos; números diferentes indican la existencia de diferencias significativas.

Respecto a la cantidad de grasa de los pernils se sabe que cuanto más elevado sea el contenido en grasa (ya sea interna o externa) menos cantidad de magro tendrán para un mismo peso. Por lo anterior, y dado que la mayor parte de la sal captada por los pernils se deposita en la

zona magra de las piezas, ya que la difusividad de la grasa es casi 20 veces menor que en el magro por la elevada cantidad de agua de este [148], los perniles con altos porcentajes de grasa necesitarán menos tiempo de salado que los perniles con bajos porcentajes de grasa. Para comparar con mayor facilidad el contenido graso de las piezas en estudio, en la Figura 38 se observa el contenido de grasa en base seca sin grasa de la zona “R” de cada materia prima. Existieron diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-value} < 0,05$) entre las piezas magras y las grasas. Las piezas semigrasas mostraron valores intermedios pudiendo ser clasificadas en cualquiera de los otros dos grupos. Los valores obtenidos fueron similares a los presentados en el apartado anterior, en el punto referente a la caracterización del producto final.



Materia prima: grasa (♦), magra (■) y semigrasa (▲).

Figura 38. Grasa en base seca sin grasa (X^G b.s. s.g.) de la zona “R”. Valores promedio \pm SD.

Determinación de la razón másica de agua (X^w b.h.)

La Figura 39 muestra para cada tipo de materia prima y zona de análisis las medias de X^w b.h. y las barras de desviación estándar a los cuatro tiempos de post-salado. Como se observa, la cantidad de agua promedio de las piezas (zona “R”) fue disminuyendo con el tiempo de post-salado como consecuencia del proceso de secado que sufrieron estas. No existieron diferencias en la cantidad de agua de las muestras para todos los tiempos (Tabla 10). Este resultado explicaría porque los perniles grasos perdieron menos peso durante el post-salado. Debido a que la cantidad de agua total de los perniles es menor, y al ser también menor la cantidad de magro de estos, la concentración de agua durante el post-salado se mantuvo constante, ya que la relación Kg totales de agua perdida frente al peso total del jamón fue menor.

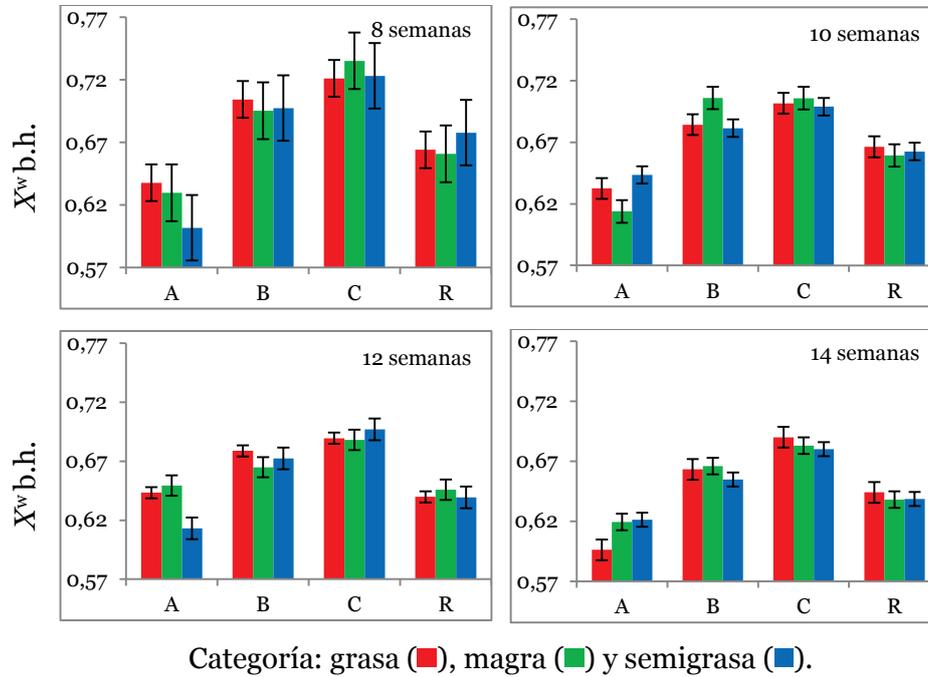


Figura 39. Humedad en base húmeda ($X^{wb.h.}$) para las diferentes zonas de las muestras evaluadas a las 8, 10, 12 y 14 semanas de post salado. Valores promedio \pm SD.

Como se observa en la Tabla 10, las variables tiempo y zona fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$), así como la interacción “tiempo * zona” y “tiempo * materia prima * zonas”. En cambio no lo fue la variable materia prima ni las interacciones “tiempo * materia prima” y “materia prima * zona.” Así, independientemente del tipo de materia prima y para todos los tiempos en estudio, existió un mayor contenido en agua en las zonas “C” con respecto a la “B” y a la “A”, que fue la que presentó una menor concentración. Al igual que ocurrió con la zona “R”, para cada una de las zonas existió un descenso de la cantidad de agua de las muestras con el tiempo, lo cual es razonable, dado el resultado observado para “R” (promedio de todo el pernil). Cuando se compararon los valores de agua entre las diferentes materias primas, para una misma

zona, solo en el caso de la zona “A” se observaron diferencias significativas ($p\text{-value}<0,05$), tal vez como consecuencia de que es esta zona la que sufre mayores variaciones al ser la más superficial.

Tabla 10. ANOVA para la influencia del tiempo (A), tipo de materia prima (B), zona de muestreo (C) e interacciones sobre el contenido de humedad en base húmeda (X^w b.h.) durante el post-salado.

Variable	α
A (Tiempo)	***
B (Mat. Prima)	n.s.
C (Zonas)	***
A*B (Tiempo* Mat.Prima)	n.s.
A*C (Tiempo* Zonas)	**
B*C (Mat.Prima*Zonas)	n.s.
A*B*C (Tiempo* Mat.Prima*Zonas)	*

Nivel de significancia (α): ns: no significativo; * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$.

Determinación de la razón másica de sal en base seca sin grasa (X^{NaCl} b.s. s.g.)

En el salado tradicional -salado en pila- la penetración de la sal en el pernil resulta favorecida por la formación de una salmuera alrededor de las piezas, generada a partir de la sal de la pila y el agua procedente del pernil y de la humedad del aire, como consecuencia del gradiente de potencial químico generado. Es por ello que el pernil durante el salado pierde agua a medida que va ganando sal [149]. En el caso de los pernils salados en bandeja se asegura la formación de la salmuera alrededor de las piezas, manteniendo la humedad relativa de las cámaras en torno a un 98-99%. Para evaluar la presencia de sal en los pernils se utilizó el parámetro de sal en base seca sin grasa, a fin de poder comparar el contenido total de sal a los distintos tiempos de post-salado entre las diferentes materias primas y las zonas (perfil transversal del jamón: zonas “A”, “B” y “C”) para cada materia prima. La Figura 40 muestra las

medias de X^{NaCl} b.s. s.g. y las barras de desviación estándar a los cuatro tiempos de post-salado para cada tipo de materia prima y zona de análisis.

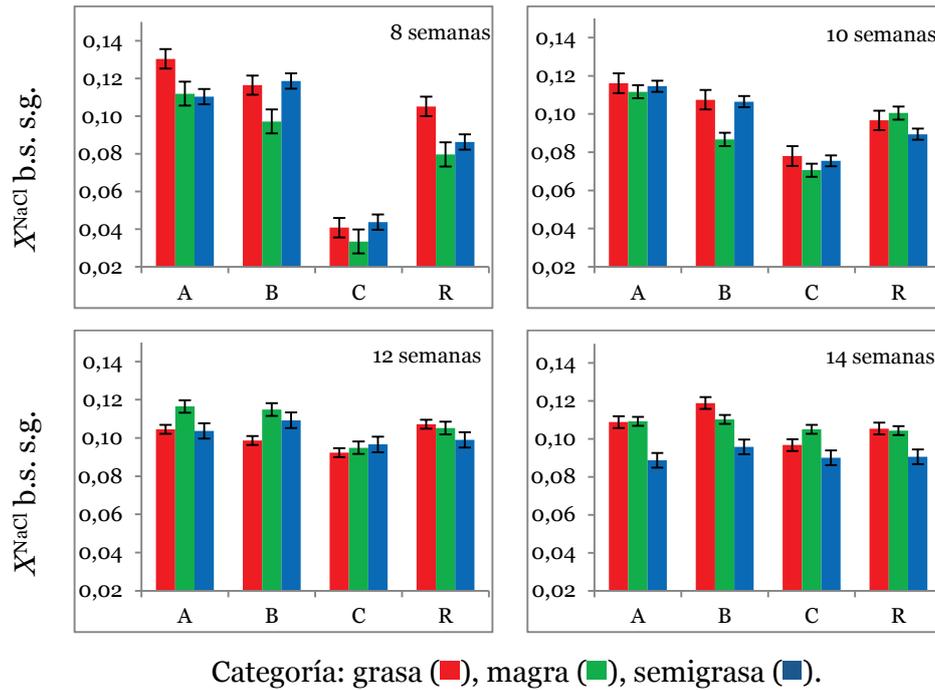


Figura 40. Sal en base seca sin grasa (X^{NaCl} b.s. s.g.) para las diferentes zonas de las muestras evaluadas a las 8, 10, 12 y 14 semanas de post salado. Valores promedio \pm SD.

El análisis del contenido de sal (X^{NaCl} b.s. s.g.) durante la etapa de post-salado se realizó mediante el estudio estadístico de la interacción entre los tiempos de post-salado, de los tipos de materia prima utilizada y de las diferentes zonas de estudio. Como se puede observar en la Tabla 11, las variables “tiempo” y “zona” fueron estadísticamente significativas (p -value $<0,05$), así como la interacción “tiempo * zona”. Para un mismo tiempo existieron diferencias significativas entre las distintas zonas de un mismo pernil, reduciéndose estas con el tiempo y llegando a ser nulas

a las 14 semanas de procesado, excepto la zona “C” de los perniles grasos. Como se observa en la figura 40, al inicio (semana 8) la zona “A” fue la que mostró una mayor concentración salina, y la zona “C” la que menos. Pero con el transcurso del tiempo y como consecuencia de la difusión (sal hacia el interior y agua hacia el exterior del pernil) las zonas “B” y “C” fueron incrementando su concentración y “A” disminuyéndola.

La variable materia prima, así como el resto de interacciones no resultaron significativas ($p\text{-value} > 0,05$) lo que demostraría que el tiempo de salado fue el correcto en todos los casos, existiendo pequeñas diferencias como consecuencia de la heterogeneidad de los perniles.

Tabla 11. ANOVA para la influencia del tiempo (A), tipo de materia prima (B), zona de muestreo (C) e interacciones sobre el contenido de sal (X^{NaCl} b.s. s.g.) durante el post-salado.

Variable	α
A (Tiempo)	*
B (Mat. Prima)	n.s.
C (Zonas)	***
A*B (Tiempo* Mat.Prima)	n.s.
A*C (Tiempo* Zonas)	**
B*C (Mat.Prima*Zonas)	n.s.
A*B*C (Tiempo* Mat.Prima*Zonas)	n.s.

Nivel de significancia (α): n.s.: no significativo; * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Determinación de la concentración de sal en fase líquida (Z^{NaCl})

Uno de los objetivos del post-salado es la difusión de la sal desde la zona más externa de las piezas, en donde se encuentra en mayor concentración tras la etapa de salado, hacia el interior de las zonas del pernil. Durante esta etapa, la concentración de sal en la fase líquida tiende a igualarse en todas las zonas [20][150] para que los cambios fisicoquímicos y bioquímicos que dependen de la concentración salina se

den por igual en toda la masa de las piezas. Así, para evaluar la difusión salina durante el post-salado se procedió a realizar el estudio de la concentración de sal en la fase líquida durante toda la etapa de post-salado. La Figura 41 muestra las zona de análisis para cada tipo de materia prima a los cuatro tiempos de post-salado.

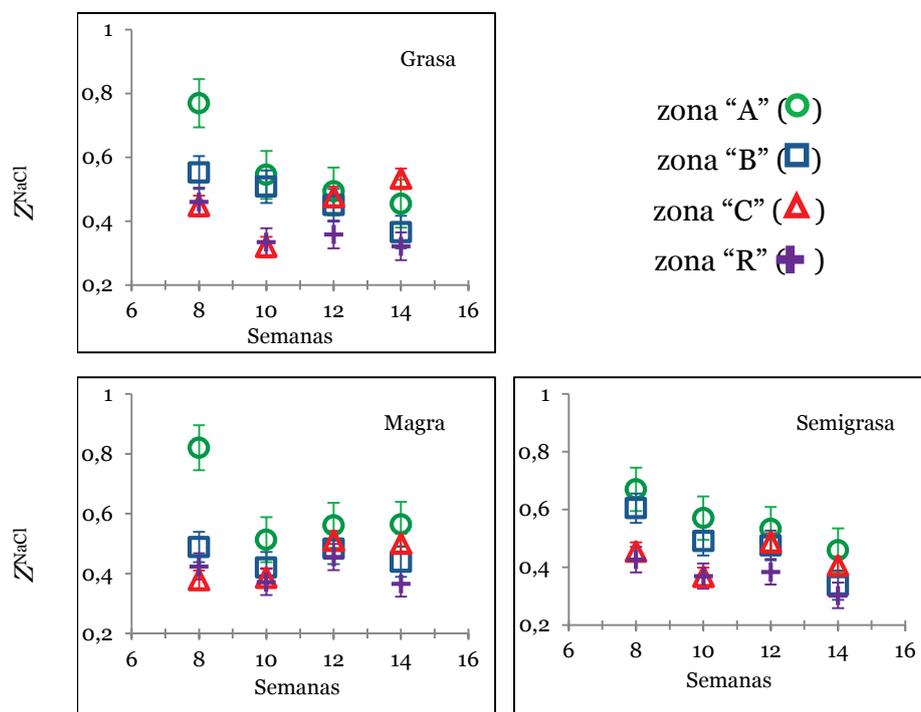


Figura 41. Valores de sal en fase líquida (Z^{NaCl}) para las categorías de las muestras evaluadas a las 8, 10, 12 y 14 semanas de post-salado.

El análisis de ANOVA (Tabla 12) mostró que las variables “tiempo” y “zona”, así como la interacción entre ambas, fueron estadísticamente significativas ($p\text{-value} < 0,05$). Ni la variable “materia prima”, ni sus interacciones presentaron diferencias ($p\text{-value} > 0,05$).

En términos generales, hubo una tendencia hacia la búsqueda de un equilibrio salino (Z^{NaCl}) entre las zonas en estudio. La sal de la zona externa “A” tendió a penetrar hacia las zonas más internas y el agua de estas a difundir hacia “A”. Consecuentemente, la concentración de “A” disminuyó, aumentando la concentración en las zonas internas “B” y “C” con el transcurso del tiempo del post-salado. La zona “B” fue la que menos variaciones presentó como resultado de los fenómenos difusivos a través suyo, dado que es un punto intermedio para la entrada de sal hacia el interior de los pernils, y la salida del agua hacia el exterior. Al final del post-salado (semana 14) no se observaron diferencias significativas ($p\text{-value}>0,05$) entre las zonas de una misma materia prima ni entre las materias primas, mostrando que el proceso de salado y post-salado bajo las condiciones de procesado se realizó correctamente.

Tabla 12. ANOVA para la influencia del tiempo (A), tipo de materia prima (B), zona de muestreo (C) e interacciones sobre el contenido de sal (Z^{NaCl}) durante el post-salado.

Variable	α
A (Tiempo)	***
B (Mat. Prima)	n.s.
C (Zonas)	***
A*B (Tiempo* Mat.Prima)	n.s.
A*C (Tiempo* Zonas)	***
B*C (Mat.Prima*Zonas)	n.s.
A*B*C Tiempo* Mat.Prima*Zonas)	n.s.

Nivel de significancia (α): n.s.: no significativo; *** $p<0,001$.

Determinación de la actividad de agua (a_w)

La actividad de agua es un parámetro que está relacionado con la concentración de solutos (Z^{solutos}) en la fase líquida de un alimento [151][152]. La concentración de solutos de la fase líquida está formada en gran parte por la sal que contienen las piezas al final del proceso de salado, es decir, de la concentración de sal alcanzada. Por consiguiente, la mayor o menor a_w de cada pieza está relacionada con la menor o mayor Z^{NaCl} .

La Figura 42 muestra los valores promedio de la actividad de agua a los diferentes tiempos de post-salado, las materias primas y las zonas de análisis dentro de cada pernil. El análisis de varianza (ANOVA) (Tabla 13) mostró que tanto el tiempo de post-salado (8, 10, 12 ó 14 semanas) como el tipo de materia prima utilizada (grasa, magra o semigrasa) y la zona de análisis (“A”, “B” o “C”) influyeron significativamente ($p\text{-value} < 0,05$) en los valores obtenidos para el parámetro de la actividad de agua durante la etapa de post-salado. En contraposición, las interacciones entre los factores “tiempo * materia prima (AB)”, “tiempo * zonas (AC)” “materia prima * zonas (BC)” y “tiempo*materia prima * zonas (ABC)”, no resultaron estadísticamente significativas ($p\text{-value} > 0,05$), lo que indicaría que a lo largo del post-salado las tres diferentes materias primas siguieron una misma tendencia con respecto a los valores obtenidos de a_w en las zonas de análisis.

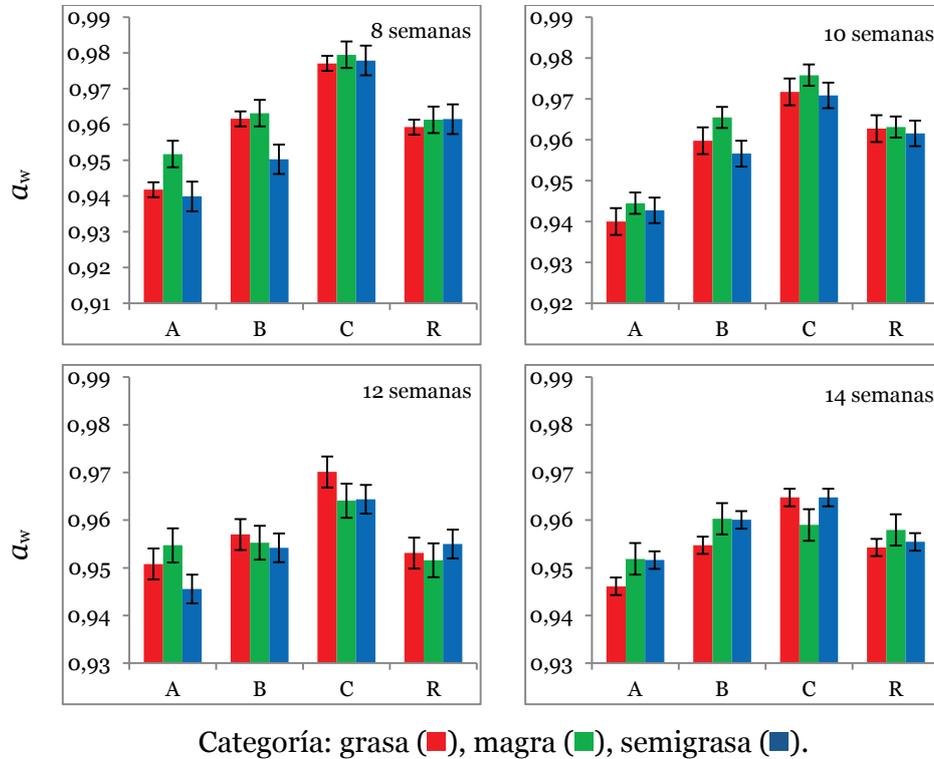


Figura 42. Actividad de agua (a_w) para las diferentes zonas de las muestras evaluadas a las 8, 10, 12 y 14 semanas de post-salado. Valores promedio \pm SD.

Durante el post-salado, y al igual que ocurría con los valores de Z^{NaCl} , el valor de actividad de agua evidenció que las diferentes zonas de las piezas tienden a igualarse, como resultado de la migración de sal desde la zona periférica hacia el interior del pernil, y al flujo de agua en sentido inverso. Al final del post-salado (semana 14) los valores de la zona “A” fueron ligeramente inferiores a los de “B” y sobre todo a los de “C”.

En conjunto los valores de a_w disminuyeron durante la etapa de post-salado, sin ser lo suficientemente bajos para proporcionar estabilidad a

los perfiles, por lo que es necesario una posterior etapa de secado en la que se reduzca aún más la a_w .

Tabla 13. ANOVA para la influencia del tiempo (A), tipo de materia prima (B), zona de muestreo (C) e interacciones sobre la actividad de agua (a_w) durante el post-salado.

Variable	α
A (Tiempo)	**
B (Mat. Prima)	*
C (Zonas)	***
A*B (Tiempo* Mat.Prima)	n.s.
A*C (Tiempo* Zonas)	n.s.
B*C (Mat.Prima*Zonas)	n.s.
A*B*C (Tiempo* Mat.Prima*Zonas)	n.s.

Nivel de significancia (α): n.s.: no significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

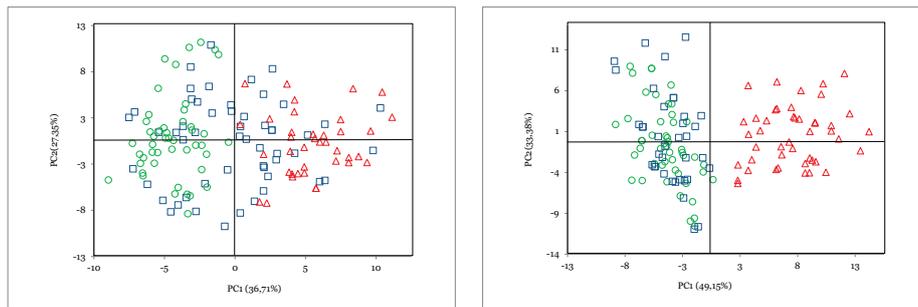
4.3.2. Caracterizaciones electrónicas

Antes de que las muestras fuesen analizadas fisicoquímicamente se procedió a realizar determinaciones electrónicas con los sensores de espectroscopia de impedancia y potenciometría. No se tomaron medidas con la técnica de voltametría de pulsos debido a que la disminución en el contenido de humedad de las muestras dificultó la adquisición de la señal. Con los datos adquiridos mediante los sensores de potenciometría y espectroscopia de impedancia se llevaron a cabo los correspondientes análisis multivariantes para observar el comportamiento de los sensores.

Espectroscopia de impedancia

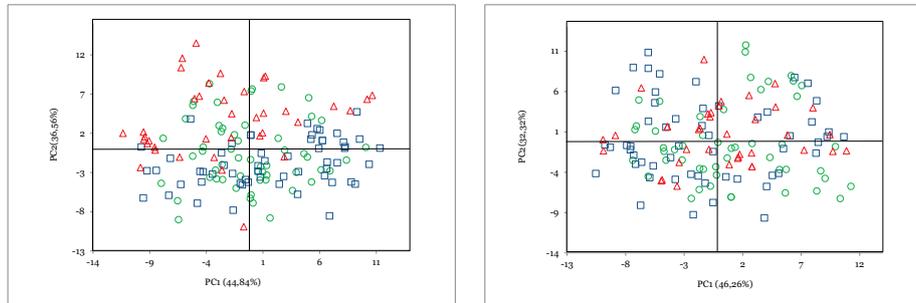
El resultado de los análisis estadísticos de las señales de impedancia no mostró ninguna agrupación clara de las poblaciones en función del tipo de materia prima. Se evidenció una agrupación en función de las zonas evaluadas.

Existió una tendencia de la señal de las zonas a la agrupación. A las ocho y diez semanas (Figura 43) de post-salado, las medidas de la zona “A” se ubicaron hacia la izquierda del componente uno (36,71%) mientras que las medidas de la zona “C” se localizaron a la derecha del mismo componente. Con el transcurso del tiempo esta diferenciación fue reduciéndose hasta llegar a desaparecer a las 12-14 semanas de post-salado (Figura 44). El comportamiento de la señal, al igual que el de las variables fisicoquímicas, tiende a igualarse entre las diferentes zonas, expresando el equilibrio de concentración al que se va llegando durante el procesado.



Zonas de análisis: “A” (○), “B” (□) y “C” (△)

Figura 43. Análisis de componentes principales para los valores del módulo y de la fase de espectroscopia de impedancia, ocho semanas (izquierda) y diez semanas (derecha) de post-salado.



Zonas de análisis: “A” (○), “B” (□) y “C” (△)

Figura 44. Análisis de componentes principales para los valores de módulo y la fase de espectroscopia de impedancia, doce semanas (izquierda) y catorce semanas (derecha) de post-salado.

La Tabla 14 muestra el número de componentes total sugerido, el porcentaje de varianza explicado y el acumulado para los cuatro tiempos de post-salado con la señales de las tres materias primas.

Tabla 14. Resumen para el análisis de componentes principales. para ocho y diez semanas de post-salado con el conjunto de valores de módulo y fase, para las zonas de las materias primas.

PC	% de varianza	
	8 sem.	10 sem.
1	36,71	49,15
2	27,35	33,38
Total	64,06	82,53

Dadas las diferencias de la señal que se observó durante las semanas ocho y diez, y con la finalidad de poderla explicar, se realizaron regresiones de PLS entre esta señal y los valores de los análisis fisicoquímicos (Tabla 15).

Como se puede observar, los valores de los ajustes del coeficiente de crossvalidación obtenidos no alcanzaron valores altos, siendo los mayores los generados para la humedad ($R^2CV X^w$ b.h. = 0,63) y la actividad de agua ($R^2CV a_w = 0,61$). En cambio, los valores fueron bajos tanto para la sal expresada en base seca sin grasa X^{NaCl} b.s. s.g., como para la expresada en la fase líquida (Z^{NaCl}).

Dados los bajos valores de R^2CV obtenidos y con la finalidad de mejorarlos, se procedió a realizar de nuevo el estudio PLS, pero esta vez solo con las frecuencias más significativas obtenidas mediante el algoritmo de iPLS (Tabla 15). Como se puede observar, en todos los casos se mejoraron los resultados, siendo también los más altos los obtenidos para la humedad ($R^2CV X^w$ b.h. = 0,70) y para la actividad de agua ($R^2CV a_w = 0,67$).

Tabla 15. Resultados del PLS para valores de espectroscopia de impedancia y los resultados de las determinaciones analíticas, para toda la señal y la selección de las frecuencias iPLS a ocho y diez semanas de post-salado.

Frecuencias	Parámetro	N. LVs	RMSEC	RMSECV	R ² Cal	R ² CV
Toda	X^w b.h.	4	0,022	0,024	0,674	0,630
	X^{NaCl} b.s.s.g.	2	0,021	0,022	0,518	0,491
	Z^{NaCl}	3	0,115	0,120	0,479	0,430
	a_w	3	0,009	0,009	0,632	0,611
Selección iPLS	X^w b.h.	1	0,023	0,024	0,722	0,698
	X^{NaCl} b.s.s.g.	2	0,029	0,030	0,605	0,575
	Z^{NaCl}	2	0,013	0,014	0,696	0,654
	a_w	4	0,009	0,009	0,690	0,672

Mediante esta selección se pudo mejorar el modelo de predicción, pero no lo suficiente como para que éste pueda servir para la predicción de la componente fisicoquímica evaluada y por tanto expresar con certeza que las diferencias entre las señales fueron causadas por los parámetros fisicoquímicos evaluados. En cambio, sí se podría afirmar que la señal está afectada por el conjunto del sistema, pues como se refleja en la Figura 45, en la que se muestran los valores observados y los predichos por el modelo matemático utilizando la selección de frecuencia por iPLS, existe una relación directa entre el agua de jamón, bien expresada como humedad o como actividad de agua, y la señal.

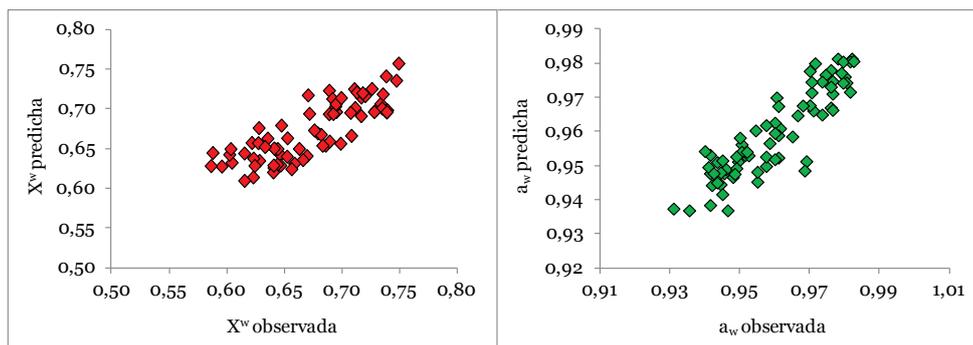


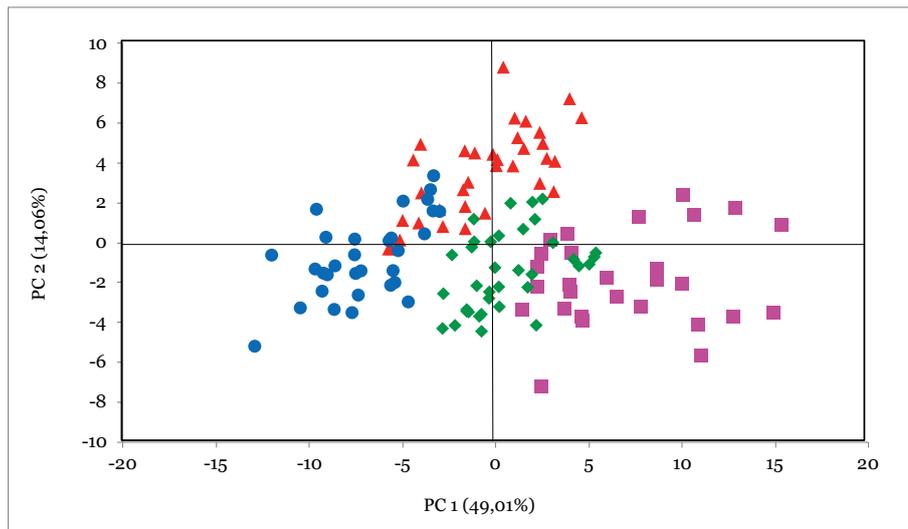
Figura 45. Valores predichos de humedad (izquierda) y actividad de agua (derecha) con selección de valores (iPLS) para las muestras a ocho y diez semanas de post-salado.

Potenciometría

Después de realizar el proceso de filtrado de la señal, ya expuesto en el apartado del estudio de la viabilidad de sensores electrónicos para la diferenciación de distintitos tipos de materias primas, con la información adquirida se procedió a realizar diferentes análisis de componentes principales (PCA). El estudio no evidenció influencia del

tipo de materia prima ni de las zonas en cada una de la materias primas. Cuando se hizo el estudio con la totalidad de las señales para cada tiempo, se observó una tendencia a la agrupación de las poblaciones en función del día de post-salado.

Se efectuaron los correspondientes análisis de componentes principales obtenidos de los metales nobles y de los no nobles. Las Figuras 39 y 40 muestran los resultados del análisis de las dos primeras componentes para los electrodos de metales nobles y no nobles respectivamente.

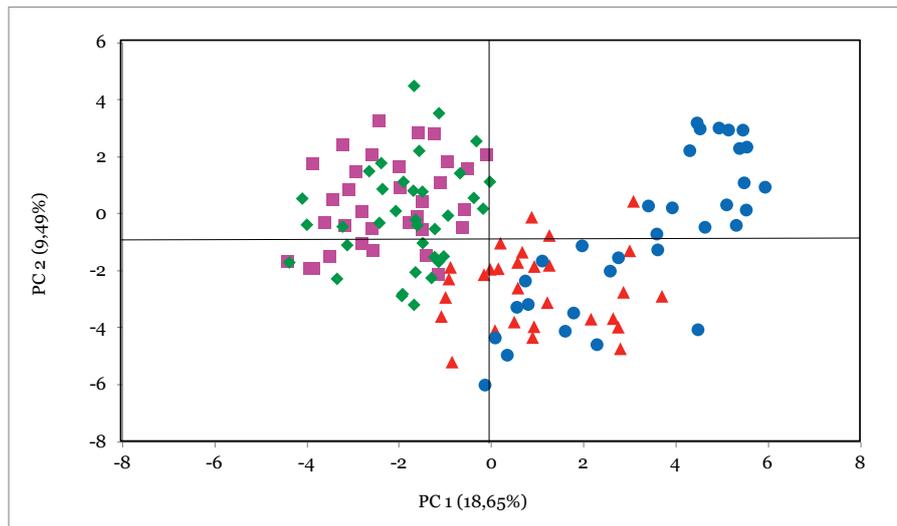


Tiempo de post-salado: 8 (■), 10 (◆), 12 (▲) y 14 (●) semanas

Figura 46. Análisis de componentes principales (PCA) para la información potenciométrica de los metales nobles.

Como se puede observar en la Tabla 16, los mejores resultados se alcanzaron cuando se evaluó solo la señal procedente del electrodo con metales nobles, obteniéndose con las tres primeras componentes una

varianza acumulada del 73,51%. En cambio, el electrodo formado con los metales no nobles fue el que presentó una menor varianza (32,06%). Al realizar el análisis de PCA utilizando la información de los electrodos de metales nobles y de los no nobles conjuntamente, se explicó un 51,59% de la varianza de las muestras, se podría establecer que la información procedente de los electrodos no nobles en vez de generar una sinergia, produce un antagonismo del modelo de clasificación.



Tiempo de post-salado: 8 (■), 10 (◆), 12 (▲) y 14 (●) semanas

Figura 47. Análisis de componentes principales (PCA) para la información potenciométrica de los metales no nobles.

Como se observa en las Figuras 46 y 47, las señales obtenidas de las piezas a ocho semanas quedaron separadas de las de catorce semanas por la primera componente. La señal procedente de los metales nobles

explicó un mayor porcentaje de varianza (49,01%) en relación a los metales no nobles (18,65%).

Tabla 16. Resumen para el análisis de componentes principales para la señal de potenciometría a los tiempos de post-salado.

PC	% de varianza		
	Nobles	No nobles	Nobles + No nobles
1	49,01	18,65	26,68
2	14,06	9,49	10,17
3	10,43	3,92	6,39
4			4,37
5			3,99
Total	73,51	32,06	51,59

Con la finalidad de encontrar entre los parámetros evaluados el que pudiera haber generado las variaciones con el tiempo de post-salado, de la señal del electrodo con los metales nobles (mayor varianza acumulada), se realizaron las regresiones de PLS (Tabla 17). Los resultados obtenidos mostraron valores de R^2CV muy bajos, no estableciendo ninguna evidencia de que pudiesen ser los responsables de la diferencias en la señal. La diferenciación de la señal observada en los análisis de PCA entre los ocho y catorce días de post-salado, podría haber sido generada por algún parámetro no evaluado.

Tabla 17. Resultados estadísticos para PLS realizado con los valores de potenciometría y los resultados de las determinaciones analíticas, para las zonas de la materia prima.

Sem.	Parámetro	N. LVs	RMSEC	RMSECV	R^2 Cal	R^2 CV
todo	X^w b.h.	1	0,038	0,039	0,303	0,031
	X^{NaCl} b.s. s.g.	1	0,028	0,029	0,486	0,019
	Z^{NaCl}	1	0,138	0,141	0,612	0,028
	a_w	1	0,012	0,012	0,355	0,083

4.3.3. Conclusiones (*Conclusions*)

En esta etapa del proceso se evidenció que el tiempo de salado establecido en el apartado de la caracterización del proceso de salado resultó adecuado. Los contenidos de agua, de sal y los valores de actividad de agua en las zonas en estudio (zona "A", la más externa, zona "B", la más cercana al hueso y la "C", la más interna), y la pérdida de peso de las piezas durante esta etapa mostró valores esperados y similares a los encontrados por otros autores.

Las diferentes materias primas no tuvieron efecto sobre las medidas electrónicas de las técnicas de espectroscopia de impedancia y potenciometría estudiadas en la caracterización de la etapa de post-salado. Otras variables han sido más influyentes sobre las respuestas obtenidas. La técnica de espectroscopia de impedancia mostró los mejores resultados siendo capaz de generar señales diferentes entre las zonas de análisis durante los dos primeros tiempos de post-salado, ocho y diez semanas, en los que también se observaron diferencias fisicoquímicas como consecuencia de la variación en la concentración salina entre zonas.

El sensor de potenciometría permitió diferenciar entre los tiempos de post-salado en los que se evidenciaron diferencias fisicoquímicas, pero no se pudo correlacionar dicho cambio de señal potenciométrica con ninguno de los parámetros fisicoquímicos analizados.

The post-salting lap has confirmed that the salting time suggested in the salting study was enough to reach the salt concentration target. Obtained values of moisture content, salt content and water activity in the areas under study ("A" the outer, " B " the closest to the bone area,

"C" the inner), and loss weight of pieces during this lap were expected and similar to the values found by other authors.

The different raw materials had no effect on the impedance spectroscopy and potentiometric responses for characterizing post-salting stage; other variables would be more influential on the acquired responses. The impedance spectroscopy technique showed the best results being able to generate different signals between the evaluated areas for the eight and ten post-salting weeks, where physicochemical differences were observed due to the variation in salt concentration between areas.

The potentiometric sensor allowed to differentiate between the post-salting times, but there was no relation between the signals and the physicochemical determinations analyzed.

4.4. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE LOS SENSORES ELECTRÓNICOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO FINAL, JAMÓN CURADO

Como se mencionó en el apartado de materiales y métodos, en la etapa de evaluación del producto final se realizaron dos estudios. Mediante la técnica de espectroscopia de impedancia, se analizaron jamones al final de su proceso de elaboración, para encontrar las relaciones entre la señal y las determinaciones fisicoquímicas evaluadas. Con el sensor de potenciometría, se analizaron jamones que presentaron problemas sanitarios. Se utilizó la técnica potenciométrica por ser la única que dispone de un electrodo capaz de penetrar el jamón curado sin destruir la pieza.

4.4.1. Evaluación de las características fisicoquímicas aplicando la técnica de espectroscopia de impedancia

En este estudio se analizaron jamones elaborados por la empresa antes de que se establecieran las condiciones idóneas de procesado. Así, se utilizaron piezas de los tres tipos de materia prima (grasa, magra y semigrasa), con un tiempo de salado de diez días por Kg de peso para las piezas grasas, y de 17 días para las piezas magras y semigrasas, con un post-salado de 90 días y un curado hasta alcanzar un 35% de merma acumulada.

Mediante las determinaciones fisicoquímicas y las determinaciones electrónicas se evaluó la influencia del tipo de materia prima (grasa, magra y semigrasa) utilizada en el ensayo, las zonas de análisis "A", "B" y "C" del corte central de los jamones, y la zona "R" obtenida del triturado de la totalidad del magro de las piezas.

4.4.2. Caracterización fisicoquímica

Determinación de la razón másica de agua (X^w b.s.)

La Figura 49 muestra las medias y la desviación estándar para el contenido de humedad de la materia prima y las zonas de análisis. Al hacer el análisis multifactorial (Tabla 18) se observó que los factores materia prima y zonas presentaron diferencias significativas (p -value $<0,05$), pero la interacción “materia prima * zona” no fue significativa.

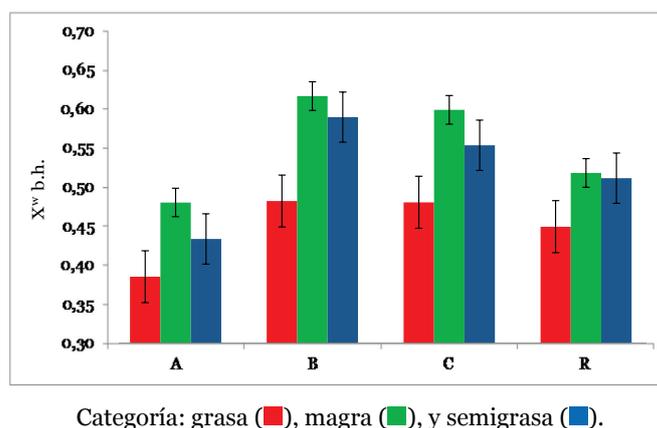


Figura 48. Humedad en base húmeda (X^w b.h.) para las diferentes zonas de las muestras evaluadas de jamones curados. Valores promedio \pm SD.

Los jamones de la categoría grasa fueron los que presentaron los menores valores de humedad. Este resultado, como se evidenció en los apartados anteriores, está relacionado con el mayor contenido de grasa presente en las piezas grasas frente a los jamones magros y los semigrasos. La mayor presencia de grasa está relacionada con una

menor cantidad de agua, para un peso constante. Dado que la merma fue igual para todos los jamones (aproximadamente 35%), los jamones grasos fueron los que tuvieron que perder más agua (en valores relativos), luego los semigrasos y finalmente los magros.

Tabla 18. ANOVA para la influencia del tipo de materia prima (A), zona de muestreo (B) y las interacciones entre los factores (A*B), sobre la humedad en base húmeda (X^w b.h.) en jamones curados.

Variables	α
A Mat. Prima	***
B Zona	***
A*B (Zona*Mat. Prima)	n.s.

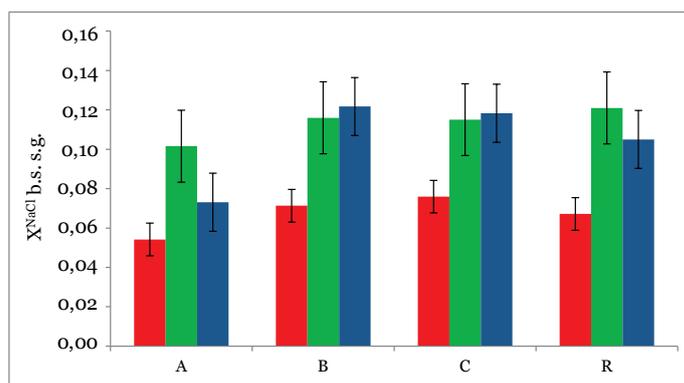
Nivel de significancia (α): n.s.: no significativo; *** $p < 0,001$.

Evaluando las zonas analizadas, el contenido de humedad (X^w b.h.) de la zona “A”, la más externa, presentó los valores más bajos. Al estar esta zona del jamón en contacto directo con el ambiente experimentó la mayor deshidratación. Las zonas “B” y “C” presentaron valores similares, para cada una de las materias primas [22].

Determinación de la razón másica de sal en base seca sin grasa (X^{NaCl} b.s. s.g.)

La Figura 50 muestra las medias y la desviación estándar para el contenido de X^{NaCl} b.s. s.g. de las tres materias primas y las zonas de análisis. El análisis multifactorial (Tabla 19) mostró cómo solo el factor “materia prima” presentó diferencias significativas (p -value $< 0,05$), siendo los valores de sal para los jamones grasos, en todas las zonas de

análisis, menores que los obtenidos para los jamones semigrasos y grasos.



Categoría: grasa (■), magra (■), y semigrasa (■).

Figura 49. Sal en base seca sin grasa (X^{NaCl} b.s. s.g.) para las diferentes zonas de las muestras evaluadas de jamones curados. Valores promedio \pm SD.

Después de lo observado en el estudio del tiempo necesario para realizar un salado en bandeja, el resultado fue el esperado, dado que los pernils grasos fueron salados durante poco tiempo (diez días respecto a los catorce días definidos en el estudio, 1,16 días/Kg pernil) y los semigrasos y magros en el tiempo correcto (en el estudio se han fijado 17 días, 1,34 días/Kg pernil).

Tabla 19. Influencia del tipo de materia prima (A), zona de muestreo (B) y las interacciones entre los factores (A*B), sobre la sal en base seca sin grasa (X^{NaCl} b.s. s.g.) en jamones curados.

Variables	α
A Mat. Prima	**
B Zona	n.s.
A*B (Zona*Mat. Prima)	n.s.

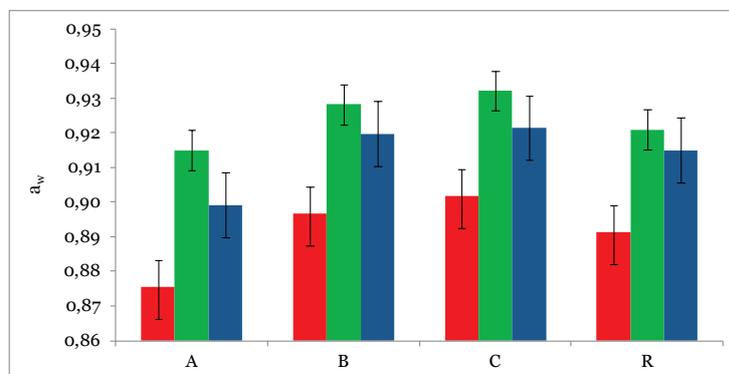
Nivel de significancia (α): n.s.: no significativo; ** $p < 0,01$.

Determinación de la actividad de agua (a_w)

La Figura 51 muestra las medias y la desviación estándar para el contenido de actividad de agua de las tres materias primas y las zonas de análisis. El análisis multifactorial (Tabla 20) mostró que los factores “materia prima” y “zona”, así como la interacción entre ellos, fueron significativos (p -value < 0,05).

Los jamones grasos mostraron los menores valores de actividad de agua. Los resultados fueron generados por la mayor deshidratación presentada, y no por la cantidad de sal presente en las piezas, ya que como se mencionó anteriormente, fueron los que menor concentración alcanzaron. Así, los jamones magros con la menor deshidratación fueron los que tuvieron mayores valores de actividad de agua, por encima de 0.91, valor límite que reduce el riesgo asociado al crecimiento de la mayoría de microorganismos patógenos [153].

El estudio de las zonas mostró como la zona “A”, con mayor deshidratación (Figura 49), fue la que presentó menores valores de a_w seguida por la zona “B” y finalmente la “C” que presentó los mayores valores.



Categoría: grasa (■), magra (■), y semigrasa (■).

Figura 50. Actividad de agua (a_w) para las diferentes zonas de las muestras evaluadas de jamones curados. Valores promedio \pm SD.

Con base en estos resultados y al igual que otros autores [152], se podría afirmar que a medida que avanza el proceso de elaboración del jamón curado la actividad de agua se ve influida en mayor medida por la matriz proteica del jamón; es decir, a medida que las piezas se deshidratan, entran en juego otras fuerzas reductoras de la actividad de agua como es la interacción con la matriz proteica, no siendo tan influyente la mayor o menor presencia de sal.

Tabla 20. ANOVA para la influencia del tipo de materia prima (B), zona de muestreo (C) y las interacciones entre los factores (A*B), sobre la actividad de agua (a_w) en jamones curados.

Variables	α
A Mat. Prima	***
B Zona	***
A*B (Zona*Mat. Prima)	*

Nivel de significancia (α): * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

4.4.3. Caracterización electrónica de las muestras aplicando la técnica de Espectroscopia de Impedancia

Se evaluó el desempeño del sensor de espectroscopia de impedancia para la caracterización de jamones curados. Se realizó un estudio de la señal, diferenciando los valores que componían la señal de impedancia (valores de módulo y de fase por separado) y con el conjunto de la información (valores de módulo + fase). Adicionalmente, se seleccionaron los intervalos de las frecuencias en los que se dio la mejor respuesta.

Una vez filtradas y procesadas las señales se procedió a la realización del análisis de componentes principales (PCA) considerando el tipo de materia prima (grasa, magra y semigrasa) y zonas de análisis. La Figura 52 muestra los resultados del análisis utilizando los valores del módulo y de la fase de la señal. Se observaron tendencias a agrupaciones por materia prima, (piezas magras agrupadas en la parte negativa del PC2, limitada por línea roja discontinua) y por zonas de análisis (zona "A" localizada en la parte negativa de la PC1, limitada por la línea azul discontinua).

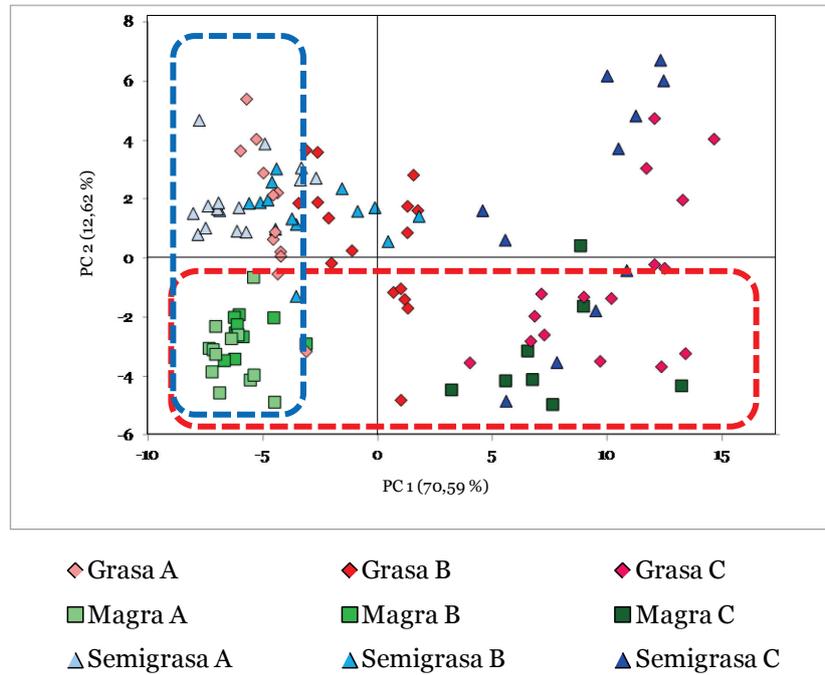
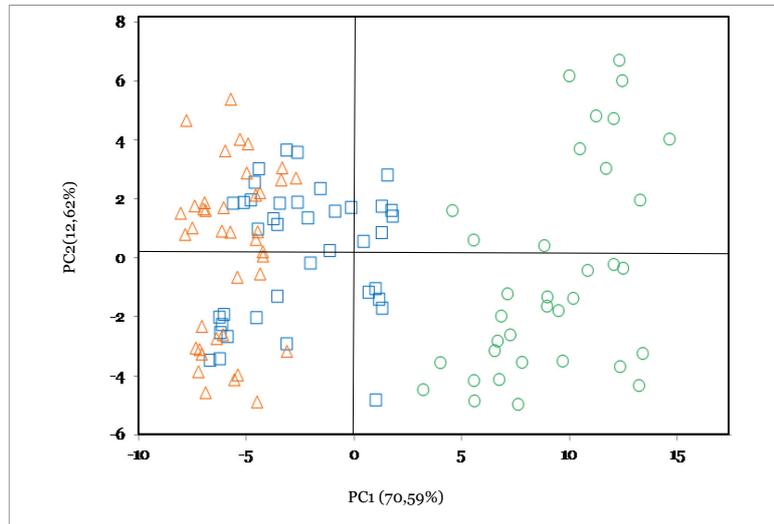


Figura 51. PCA para los valores de módulo y fase de espectroscopia de impedancia en función de tipo de materia prima y zona de análisis.

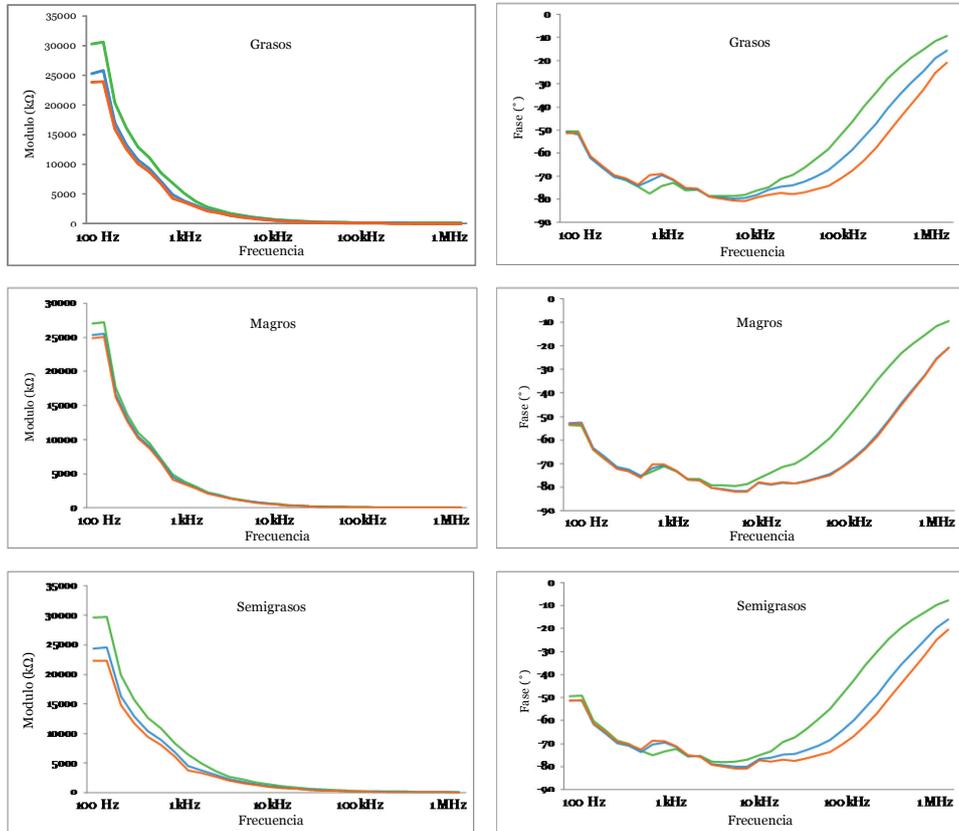
Teniendo en cuenta este resultado se procedió a realizar el estudio en función de la materia prima y de la zona de análisis. Los resultados para la materia prima mostraron una mala agrupación de las poblaciones. Cuando se tuvo en cuenta las zonas, con los tres primeros componentes principales se explicó una varianza del 93,47%: PC1 (70,59%), PC2 (12,62%) y PC3 (10,25%). En la figura 53 se muestra la representación de los dos primeros componentes. Como se observa, el primer componente fue capaz de discriminar entre los valores procedentes de la zona “A”, de los de la zona “C”, localizando los de la zona “B” entre ambos.



Zonas de análisis: "A" (○), "B" (□), y "C" (△)

Figura 52. Análisis de componentes principales para los valores de módulo y fase de espectroscopia de impedancia en función de las zonas de análisis.

La Figura 54 muestra la media de las señales para los valores del módulo (izquierda) y la fase (derecha) de las tres categorías de materia prima, agrupando las señales en función de la zona de análisis. Se apreció una diferenciación entre las señales de cada zona. Así, la señal aumentó de la zona más interna (zona "C") a la más externa (zona "A").



Zonas de análisis: A(—), B(—) y C(—)

Figura 53. Señal de impedancia para las tres categorías de jamones, valores de módulo (izquierda), valores de fase (derecha).

La Figura 55, a modo de ejemplo, muestra la fase de la señal para la totalidad de las medidas realizadas para cada una de las zonas en los jamones de la categoría grasa. Se observó que a frecuencias entre los 25 kHz, y los 900 KHz existió una diferenciación entre las señales. La respuesta de la zona “A” presentó mayores valores que la “B”, seguidos por la zona “C”.

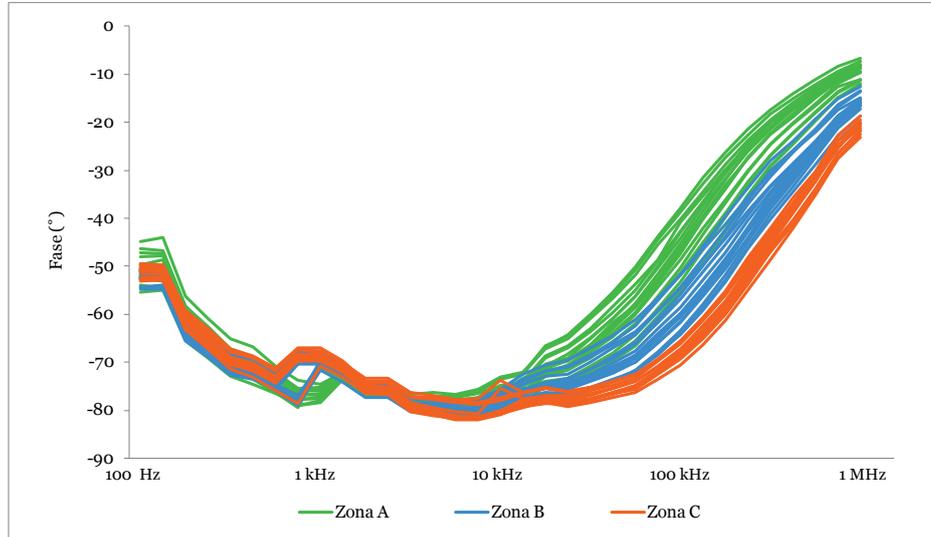


Figura 54. Señal de la fase de impedancia para cada zona de análisis, para cada una de las muestras evaluadas del grupo de jamones grasos.

Con la finalidad de evaluar la información electrónica y la relación con las determinaciones fisicoquímicas realizadas (X^w b.h., X^{NaCl} b.s. s.g. y a_w) que pudiesen generar variaciones de la señal, del modo que lo han expresado los análisis de componentes principales, se procedió a realizar una regresión de PLS entre los parámetros fisicoquímicos y los datos electrónicos del módulo y la fase de cada una de las zonas (“A”, “B” y “C”) de los tres tipos de jamón (grasos, magros y semigrasos).

Los resultados obtenidos para el PLS (Tabla 21) mostraron cómo la actividad de agua ($R^2CV=0,88$) y el contenido de humedad ($R^2CV=0,76$) de las zonas analizadas tuvieron valores de correlación elevados, siendo menores los encontrados para la cantidad de sal ($R^2CV=0,50$).

Con la finalidad de mejorar el modelo a fin de que éste pueda ser más rápido e incluso más efectivo, se procedió a realizar una selección de frecuencias mediante el algoritmo iPLS. Una vez obtenidos los resultados, se volvió a realizar la regresión con las frecuencias seleccionadas. Los resultados se muestran en la Tabla 21. Al trabajar con los intervalos significativos de la señal, mejoraron los resultados estadísticos, siendo el parámetro actividad de agua (a_w) el que presentó el mejor ajuste, con un coeficiente de correlación de 0,93 y un coeficiente de validación cruzada del 0,91. Los intervalos comprendidos desde los 300 Hz hasta los 80 kHz explicaron de mejor manera la caracterización de la actividad de agua (a_w); entre los 850 Hz y los 185 kHz la caracterización de la humedad (X^w b.h.), y de 800 Hz hasta 800 kHz la caracterización de la concentración salina (X^{NaCl} b.s. s.g.). La reducción del número de frecuencias a las que se mide una muestra, reduce el tiempo de una medición, aspecto muy importante cuando se trabaja en línea de producción.

Tabla 21. Influencia del tipo de materia prima (B), zona de muestreo (C) y las interacciones entre los factores (A*B), sobre la actividad de agua (a_w) en jamones curados.

Frecuencias	Parámetro	Nº LVs	RMSEC	RMSECV	R ² Cal	R ² CV
toda	X^w b.h.	3	0,037	0,039	0,789	0,763
	X^{NaCl} b.s. s.g.	1	0,011	0,011	0,525	0,501
	a_w	4	0,005	0,006	0,908	0,877
Selección iPLS	X^w b.h.	2	0,038	0,039	0,779	0,768
	X^{NaCl} b.s.s.g.	2	0,011	0,011	0,552	0,531
	a_w	6	0,004	0,005	0,928	0,906

4.4.4. Evaluación electrónica de jamones curados con problemas higiénico sanitarios aplicando la técnica de potenciometría

En la industria jamonera, el “calado” hace referencia al proceso mediante el cual las piezas, al final del curado, son evaluadas por un juez experto a través de su olor. Mediante este procedimiento el juez valora en cada uno de los jamones y de manera separada, la posible presencia de olores anómalos que impidan la comercialización del producto. En el presente estudio se evaluó la utilización de la técnica basada en la potenciometría para conseguir una cala electrónica que pueda mecanizar el proceso y reducir la dependencia de personal entrenado. Se decidió la utilización de la técnica de potenciometría por ser la única en la que se pudo conseguir una sonda lo suficientemente resistente que pudiese penetrar el jamón. Para tal fin, se utilizaron ocho jamones clasificados por un juez de la empresa, como jamones en buen estado (patrón) y 15 con presencia de olores anómalos (alterados). Se procedió a la toma de datos electrónicos introduciendo directamente la sonda potenciométrica en el jamón. Una vez conseguidas las medidas, se extrajo parte de la muestra de forma aséptica para efectuar los análisis microbilógicos y posteriormente, para los fisicoquímicos.

Caracterización fisicoquímica

La Tabla 22 muestra los valores promedio y desviación estándar de las determinaciones fisicoquímicas realizadas sobre las muestras de jamones alterados y jamones patrón. No se presentaron diferencias significativas ($p\text{-value} > 0,05$) en ninguno de los parámetros fisicoquímicos estudiados. Los resultados obtenidos eran previsibles,

dado que todos los jamones procedían de un mismo lote y se elaboraron mediante el mismo proceso y bajo las mismas condiciones. Tanto los valores de sal como de actividad de agua obtenidos fueron similares a los presentados por otros autores [22]. Aunque no se presentaron diferencias significativas, el contenido de sal de los jamones alterados fue ligeramente superior al de los jamones patrón, lo que desde el punto de vista tecnológico debería reducir el riesgo de una proliferación de microorganismos durante las primeras etapas.

Tabla 22. Humedad en base húmeda (X^w b.h.) , grasa en base seca sin grasa (X^G b.s. s.g.), sal en base seca sin grasa (X^{NaCl} b.s. s.g.) y actividad de agua (α_w) para los jamones alterados y jamones patrón. Valores promedios \pm SD.

	Alterados	Patrón	α
X^w (b.h.)	0,557 \pm 0,031 ^a	0,547 \pm 0,024 ^a	n.s.
X^G (b.s. s.g.)	0,016 \pm 0,007 ^a	0,016 \pm 0,008 ^a	n.s.
X^{NaCl} (b.s. s.g.)	0,093 \pm 0,015 ^a	0,079 \pm 0,007 ^a	n.s.
X^w (b.h.)	0,557 \pm 0,031 ^a	0,547 \pm 0,024 ^a	n.s.

Nivel de significancia (α): n.s.: no significativo.

Caracterización microbiológica

La Tabla 23 muestra las medias y desviación estándar para las determinaciones microbiológicas. Se presentaron diferencias estadísticamente significativas (p -value $<$ 0.05) para los recuentos de los microorganismos aerobios mesófilos, las bacterias micrococáceas y la flora halotolerante, siendo mayores para los jamones alterados en relación con los jamones patrón. Estas bacterias son las predominantes en el proceso de elaboración del jamón curado, siendo responsables del desarrollo de aromas desagradables [154][155]. Es sabido que un número elevado de estas bacterias en etapas tempranas del proceso generará un deterioro del producto. Las alteraciones causadas por este

tipo de flora pueden enmascarse durante la maduración y solamente detectarse como aroma no adecuado en la evaluación de control al final del proceso, o incluso a veces durante el periodo de consumo, lo cual supone una depreciación de la calidad del producto [149]. Resulta importante destacar que al final del proceso de elaboración del jamón curado, los microorganismos, causantes de la alteración reducen su número, al ser la actividad de agua del producto acabado poco adecuada para su desarrollo [156]. Así, los recuentos para los jamones alterados, en comparación con los obtenidos para los jamones patrón, durante las primeras etapas de la elaboración, podrían haber sido mayores, generando las alteraciones de cala que se observan en el producto final.

En referencia a los otros microorganismos evaluados, en el caso de los *Clostridium* sulfito-reductores y de las enterobacterias no se aislaron colonias en ninguna de las muestras evaluadas, mientras que los recuentos obtenidos para las bacterias ácido lácticas fueron inferiores al límite de detección.

Tabla 23. Determinaciones microbiológicas para jamones alterados y jamones patrón. Valores promedios \pm SD.

Microorganismo	Alterados (log ufc/g)	Patrones (log ufc/g)	α
Aerobios mesófilos	4,025 \pm 0,652 ^a	3,279 \pm 1,004 ^b	*
Halotolerantes	5,090 \pm 0,428 ^a	4,137 \pm 0,793 ^b	*
Micrococáceas	3,484 \pm 0,369 ^a	2,416 \pm 1,520 ^b	*
Acido lácticas	<2 [†]	<2	n.s.
Clostridium Sulfitoreductoras	ausencia	ausencia	-
Enterobacterias	ausencia	ausencia	-

Nivel de significancia (α): n.s.: no significativo; * $p < 0,05$.
<2[†]: recuentos menores a 2 log (cfug⁻¹)

Análisis de la señal electrónica (potenciometría)

Al realizar el análisis de componentes principales (PCA) y compararlo con la clasificación de los jamones dada por la empresa (Figura 55), se obtuvo que con los dos primeros componentes se explicó el 84,72% (PC1=54,09%, PC2=30,63%) de la varianza de las muestras. El PC1 generó dos agrupaciones, localizando los jamones patrón a su izquierda y a los jamones alterados a su derecha.

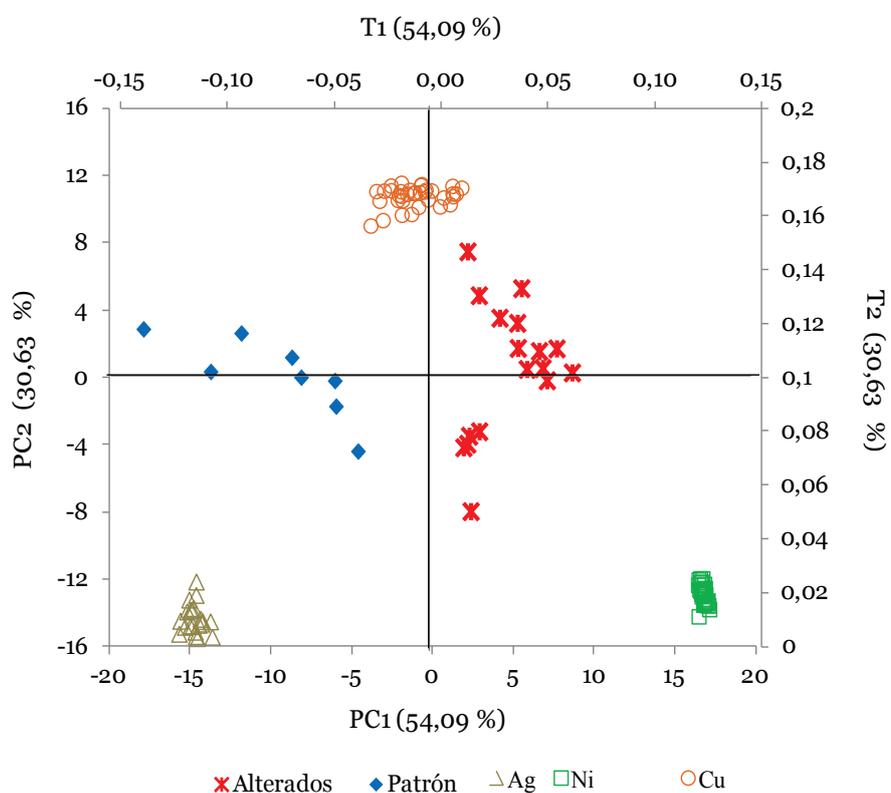


Figura 55. Análisis de componentes principales (PCA) para las muestras evaluadas (jamones alterados y controles) y para la señal de potenciometría para cada electrodo.

Los valores potenciométricos obtenidos a partir del electrodo de plata (Ag) estuvieron directamente relacionados con los jamones patrón, mientras que los jamones alterados fueron agrupados principalmente bajo la señal del electrodo de níquel (Ni). El electrodo de cobre (Cu) no tuvo gran influencia en el análisis.

La Figura 56 muestra el comportamiento para cada uno de los electrodos. Como se observa, existió una clara variación en el potencial registrado por los metales níquel (Ni) y plata (Ag) para las medidas adquiridas de jamones alterados y jamones patrón, siendo máxima para el electrodo de níquel (Ni). El electrodo de cobre (Cu) no presentó variación alguna.

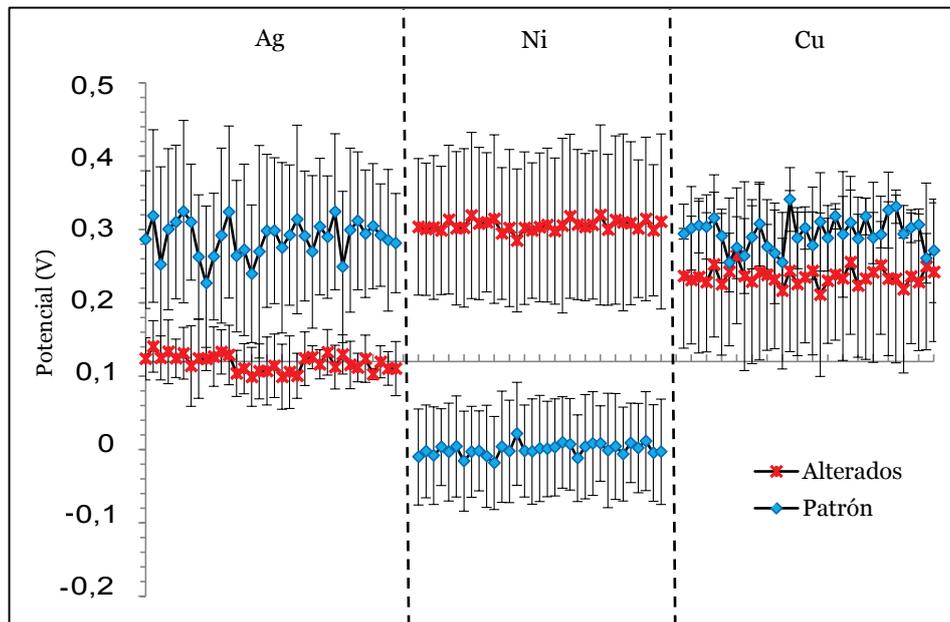


Figura 56. Señales potenciométricas generadas en los electrodos plata (Ag), níquel (Ni) y cobre (Cu) presentes en la sonda.

Con base en los resultados obtenidos se realizó nuevamente un PCA excluyendo la información adquirida con el electrodo de cobre (Cu) (Figura 57). El análisis realizado mejoró los resultados estadísticos. Con los dos primeros componentes se explicó un 86,09% de la varianza total de las muestras (PC1 = 72,82%; PC2 = 13,27%). Al evaluar la relación entre las variables microbiológicas (significativas) y la sal (que aún no siendo significativa, fue superior para los jamones grasos) con los datos potenciométricos obtenidos por los electrodos de plata (Ag) y níquel (Ni), se observó que los valores del electrodo de níquel (Ni) fueron correlacionados directamente con los resultados de las determinaciones microbiológicas y la sal (todos ellos en el cuadrante positivo del PC1). La señal obtenida con el electrodo de plata (Ag) quedó en el cuadrante negativo de la PC1.

Los jamones alterados mostraron mayor contenido de sal, así como también, recuentos más altos para las bacterias halotolerantes y micrococáceas frente a los jamones patrón. Estos resultados presentaron una relación directa con la señal del electrodo de níquel (Ni), la cual presentó mayores valores para los jamones alterados. La señal del electrodo de plata (Ag) fue más alta para los jamones control, observándose un comportamiento inverso con los jamones alterados. La disminución del potencial de la señal del electrodo de plata (Ag) en relación con los jamones alterados pudo deberse a un alto contenido de sal [157][158] y a la formación de sulfuros como consecuencia de la proliferación microbiana [156]. El sulfuro de dimetilo produce una disminución en el potencial de la plata (Ag) [159] y, podría ser el causante del incremento del potencial obtenido con el electrodo de níquel (Ni) en los jamones alterados [160][161].

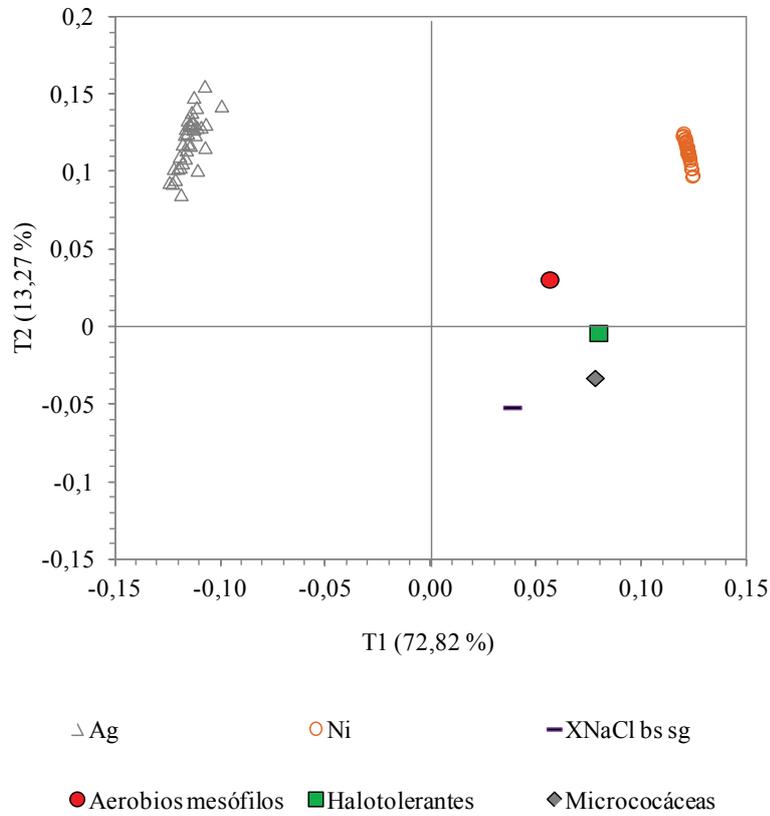


Figura 57. Análisis conjunto con las variables fisicoquímicas y microbiológicas de scores y loadings para PC1 y PC2.

En este estudio se pretendió obtener una herramienta de clasificación de jamones, entre muestras aptas y no aptas, bajo parámetros higiénico sanitarios. Se procedió a realizar un estudio de PLS-DA para obtener el modelo de clasificación. En este caso no solo se utilizó la crovalidación como herramienta estadística para evaluar la bondad del modelo, sino que, además, el modelo obtenido se testó con nuevas muestras

(jamones), las cuales no fueron utilizadas en la obtención del modelo. Con este propósito, la señal electrónica de cinco de los jamones clasificados por la empresa como alterados y cuatro patrones, no se utilizaron para el desarrollo del modelo, pero sí para su validación.

Como se muestra en la Figura 58 existió una buena clasificación de las muestras no utilizadas en la obtención del modelo, es decir, las usadas para la validación, presentando buenos valores de correlación de calibración ($R^2C=0,89$) y de predicción ($R^2P=0,90$). Con base en estos resultados, se podría decir que la herramienta basada en potenciometría sería útil en la clasificación de jamones alterados. Dada la baja tasa de muestras testadas es preciso realizar nuevos estudios con un mayor número de muestras, que permitan obtener un modelo en el que se emplee más información y que confirmen los resultados obtenidos.

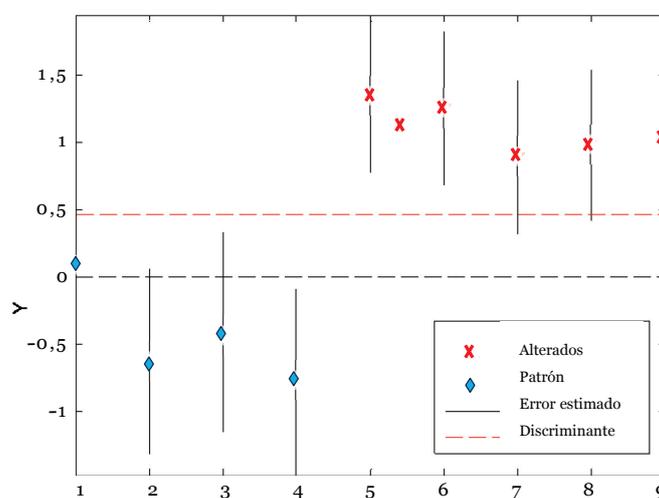


Figura 58. Resultados del análisis de PLS-DA para la clasificación mediante lecturas potenciometricas de jamones curados alterados.

4.4.5. Conclusiones (*Conclusions*)

El uso de la espectroscopia de impedancia como herramienta para el control del jamón curado una vez elaborado, mostró su capacidad de caracterización con base en la correlación obtenida a partir de la concentración salina de las zonas analizadas (humedad y actividad de agua). El equipo no diferenció entre los tres tipos de jamones curados evaluados (grasos, magros y semigrasos).

El estudio mostró que la presencia de la “cala” en los jamones no es atribuible al proceso de elaboración desde el punto de vista de los valores de sal y actividad de agua finales, dado que éstos fueron similares al de los jamones patrón, y a los obtenidos por otros autores. La presencia de una mayor carga microbiana (microorganismos aerobios mesófilos, micrococáceas y bacterias halotolerantes) indica que durante las primeras etapas de elaboración, en las que las piezas son muy inestables, existió una contaminación que generó posteriormente la alteración.

Mediante el empleo del equipo de potenciometría se discriminó de manera fiable los jamones alterados de los jamones no alterados, siendo el metal níquel (Ni) el asociado a dicha discriminación. Es necesario profundizar en estos estudios con la finalidad de reducir el tiempo de medida y desarrollar un equipo que pueda ser adaptable al proceso en línea de una industria productora de jamones curados.

The impedance spectroscopy showed a good performance for controlling the dry cured hams, it is based on correlation obtained from the salt concentration (moisture content and water activity) in the studied areas; the sensor did not discriminate between the types of cured hams evaluated (fat, lean and semi-fat).

The study showed that the presence of microbiological alterations on hams are not attributable to the manufacturing process, there were no significant differences between values of salt content and water activity with altered and good quality hams, what is more, values were also similar to those obtained by other authors. The presence of a higher microbial loads (mesophilic, halotolerant and micrococaceae bacteria) in altered hams indicates that during the early stages of production process, where pieces are very unstable, there was a high microbial load that generated the alteration.

5. CONCLUSIONES (*CONCLUSIONS*)

El salado en bandeja es un proceso en el que se generan cambios en la velocidad de incorporación de sal en las piezas procesadas, siendo el tiempo necesario para este procedimiento de 1,34 días/Kg de pernil para piezas magras o semigrasas, y de 1,16 días/Kg de pernil para piezas grasas.

Los sensores estudiados han mostrado diferentes rendimientos dependiendo de la etapa del proceso en los que se utilizaron. La espectroscopia de impedancia ha sido la mejor herramienta para caracterizar el tipo de materia prima (magra, semigrasa y grasa) y la evaluación de las etapas de post-salado y curado con base en las diferencias que se generaron como consecuencia de las distintas concentraciones salinas que se obtuvieron. En la etapa de post-salado, la señal de impedancia permitió comprobar el avance de la sal en las diferentes zonas en estudio de los perniles, siendo bastante notorio el cambio en el comportamiento de la señal entre las semanas diez y doce de post-salado. En la etapa de curado los cambios de señal mostraron su relación con los diferentes valores de actividad de agua y el contenido de humedad, pudiendo ser usado para definir el estado de curado. El sensor de potenciometría mostró buenos resultados en la evaluación higiénico sanitaria de las piezas curadas, al diferenciar entre muestras de buena calidad y muestras con alteraciones. Por su parte, el sensor de voltametría de pulsos mostró una clasificación de la materia prima, pero dada la duración de cada uno de los ensayos, lo hace inviable para un procesado en línea.

La utilización de la técnica de espectroscopia de impedancia podría ayudar en el control de las etapas de elaboración de jamón curado,

además de su capacidad para evaluar las diferencias entre concentraciones que se tienen en las diferentes zonas de las piezas durante su procesado. Es importante desarrollar una sonda que permita el análisis sin la necesidad de toma de muestra.

La potenciometría, en la que sí se dispone de una sonda de medida directa (sin toma de muestra), permitió la discriminación entre jamones patrón y jamones alterados, actuando como una “cala” electrónica. Se hacen necesarios nuevos estudios que profundicen y confirmen los resultados encontrados en la presente tesis doctoral.

Tray salting process generates changes in the speed of salt incorporation in the processed pieces, being for raw lean and semi-fat pork hams the needed time for this procedure 1,34 days / Kg, and for raw fat hams 1,16 days / Kg.

The studied sensors showed different performance depending on the lap of the process where they were applied. Impedance spectroscopy showed the best result for the characterization of the raw material (fat, lean and semi-fat), and on the evaluation of the post-salting and curing laps based on the different obtained signals as a result of the salt content variation. On the post-salting stage, the impedance signal allowed to see the salting progress on the studied areas (“A”; “B” and “C”) of the pieces, a noticeable change on the signal behavior was seen in between ten and twelve post-salting weeks. In the curing lap, the signal showed a correlation between values of the water activity and moisture content, and can be used to define curing. The potentiometric sensor showed good results in the discrimination of good quality and altered samples. Meanwhile pulse the voltammetry sensor was able to

do a classification of raw material, given the length of each measurement process; it is unfeasible to be adaptable to the process.

The use of impedance spectroscopy technique could help for controlling the dry cured ham manufacturing process in addition to its ability to assess differences between salt concentrations in different areas during processing. It is important to develop a probe that permits analysis without destructive sampling.

Potentiometry technique which provides a direct measurement probe, allowed the discrimination between good and altered hams, resulting in an electronic sensor to control all the pieces in the production.

Despite the proper performance of the sensors, it is necessary to increase the research in this area to improve the obtained results. In order to obtain an adaptable sensor to the ham manufacturing process that helps in the control of the process and guarantees acceptance from the consumers.

6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Federación Española de Industrias de la Alimentación y bebidas (FIAB).(2012). Informe económico.
- [2] Cruz, J. (2013). Los productores de jamón curado buscan suplir con las exportaciones la caída de las ventas en España. *Eurocarne* 216, 35-44.
- [3] El sector cárnico español. Asociación nacional de industrias de la carne de España. Recuperado el 8 abril de 2014, de <http://www.anice.es/>
- [4] Barbut, S., Sosnicki, A. A., Lonergan, S. M., Knapp, T., Ciobanu, D. C., Gatcliffe, L. J., Huff-Lonergan, E., Wilson, E.W. (2008). Progress in reducing the pale, soft, and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Science* 79, 46-63.
- [5] Meath pH and pork quality. Pork Quality Assurance Program. Canadian Ministry of agriculture and food, Lead/OMAFRA. Recuperado el 9 de abril de 2014, de <http://www.omafra.gov.on.ca>
- [6] Westphalen, A. D., Briggs, J. L., Lonergan, S. M. (2005). Influence of pH on rheological properties of porcine myofibrillar protein during heat induced gelation. *Meat Science* 70, 293-299.
- [7] Lonergan, S. M., Stalder, K. J., Knight, T. J., Huff-Lonergan, E., Goodwin, R. N., Prusa, K.J., Beitz, D. C. (2007). Influence of lipid content on pork sensory quality within pH classification. *Journal of Animal Science* 85, 1074-1079.
- [8] Lonergan, S. (2012). Pork Quality: pH Decline and Pork Quality. Fact sheets. Pork information gateway. U.S. Pork Center of Excellence, 1-3.
- [9] Guerrero, L., Gou, P., Arnau, J.(1999). The influence of meat pH on mechanical and sensory textural properties of dry-cured ham. *Meat Science* 52(3),267-273.
- [10] Arnau, J., Gou, P., Comaposada, J. (2003). Effect of the relative humidity of drying air during the resting period on the composition and appearance of dry-cured ham surface. *Meat Science* 65(4), 1275-1280.

- [11] Gou, P., Comaposada, J., Arnau, J. (2004). Moisture diffusivity in the lean tissue of dry-cured ham at different process times. *Meat Science* 67(2), 203-209.
- [12] Santos-Garcés, E., Muñoz, I., Gou, P., García-Gil, N., Fulladosa, E. (2014). Including estimated intramuscular fat content from computed tomography images improves prediction accuracy of dry-cured ham composition. *Meat Science* 96(2A), 943-947.
- [13] Arnau, J. (1998). Principales problemas tecnológicos en la elaboración del jamón curado. En: *El jamón curado: Tecnología y análisis de consumo*. Simposio Especial-44th ICoMST. Estrategias Alimentarias S.L. Eurocarne. 71-88.
- [14] Gou, P. (1998). Dinámica del secado del jamón curado. En: *El jamón curado: Tecnología y análisis de consumo*. Simposio Especial-44th ICoMST. Estrategias Alimentarias S.L. Eurocarne. 89-110.
- [15] Ruiz-Cabrera, M.A., Gou, P., Foucat, L., Renou, J.P., Daudin, J.D. (2004). Water transfer analysis in pork meat supported by NMR imaging. *Meat Science* 67(1), 169-178.
- [16] Hernández, E., Huerta, T. (1993). Evolución de los parámetros microbiológicos del jamón curado. *Microbiología. SEM* 9, 10-19.
- [17] Leistner, L., Rödel, W.Y., Krispien, K. (1981). Microbiology of meat products in high and intermediate moisture ranges. In L.B. Rockland y G.F. Stewart, *water activity: influences on food quality*. 855-916.
- [18] Arnau, J. (1998). Tecnología de fabricación del jamón curado en distintos países. En: *El jamón curado: Tecnología y análisis de consumo*. Simposio Especial-44th ICoMST. Estrategias Alimentarias S.L. Eurocarne. 9-24.
- [19] Arnau, J. (1993). Tecnología de elaboración del jamón curado. *Microbiología SEM* 9. 3-9.
- [20] Barat, J.M., Grau, R., Pagán-Moreno, M.J., Fito, P. (2004). Replacement of pile salting by simultaneous brine thawing-salting in Spanish cured ham manufacturing. *Meat Science* 66(3), 603-608.
- [21] Consozio del prosciutto di Parma. (s.f.). Recuperado el 5 abril de 2014, de <http://www.prosciuttodiparma.com>
- [22] Aliño, M., Grau, R., Toldrá, F., Barat, J. (2010). Physicochemical changes in dry-cured hams salted with potassium, calcium and

- magnesium chloride as a partial replacement for sodium chloride. *Meat Science* 86, 331-336.
- [23] Blesa, E., Aliño, M., Barat, J.M, Grau, R., Toldrá, F., Pagán, M.J. (2008). Microbiology and physico-chemical changes of dry-cured ham during the post-salting stage as affected by partial replacement of NaCl by other salts. *Meat Science* 78(1-2), 135-142.
- [24] Serra, X., Ruiz-Ramírez, J., Arnau, J., Gou, P. (2005). Texture parameters of dry-cured ham m. biceps femoris samples dried at different levels as a function of water activity and water content, *Meat Science* 69(2), 249-254.
- [25] Bolzoni, L., Barbieri, G., Virgili, R. (1996). Changes in volatile compounds of Parma ham during maturation *Meat Science* 43, 301-310.
- [26] Narváez-Rivas, M., Gallardo, E., León-Camacho, M. (2014). Chemical changes in volatile aldehydes and ketones from subcutaneous fat during ripening of Iberian dry-cured ham. Prediction of the curing time. *Food Research International* 55, 381-390.
- [27] Arnau, J., Serra, X., Comaposada, J., Gou, P., Garriga, M. (2007). Technologies to shorten the drying period of dry-cured meat products, *Meat Science* 77(1), 81-89.
- [28] Andrés, A.I., Cava, R., Ventanas, S., Muriel, E., Ruiz, J. (2007). Effect of salt content and processing conditions on volatile compounds formation throughout the ripening of Iberian ham. *European Food Research and Technology* 225, 677-684.
- [29] Flores, M., Grimm, C.C., Toldrá, F., Spanier, A.M. (1997). Correlations of sensory and volatile compounds of Spanish "Serrano" dry-cured ham as a function of two processing times. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 2178-2186.
- [30] Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Andrés, A., García, C. (1999). Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process. *Meat Science* 52, 19-27.
- [31] García, C., Carrapiso, A. (2001). La calidad sensorial del jamón ibérico y su evaluación: la cala y la cata del jamón. *Tecnología del jamón Ibérico*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 395-416.
- [32] Osborne, Brian. (2000). Nearinfrared spectroscopy in food analysis. In Robert A. Meyers (Ed.), *Encyclopedia of analytical*

- chemistry: Applications, theory and instrumentation volume 12: Electronic absorption and luminescence, gas chromatography, infrared spectroscopy, kinetic determinations (pp. 1-14). New York: John Wiley & Sons Inc.
- [33] Collell, C., Gou, P., Arnau, J., Comaposada, J. (2011). Non-destructive estimation of moisture, water activity and NaCl at ham surface during resting and drying using NIR spectroscopy, *Food Chemistry* 129(2), 601-607.
- [34] Gou P., Santos-Garcés E., Høy M., Wold J.P., Liland, K. H., Fulladosa, E. (2013). Feasibility of NIR interactance hyperspectral imaging for on-line measurement of crude composition in vacuum packed dry-cured ham slices. *Meat Science* 95(2), 250-255.
- [35] Prevolnik, M., Škrlep, M., Janeš, L., Velikonja-Bolta, Š., Čandek-Potokar, M. (2011). Accuracy of near infrared spectroscopy for prediction of chemical composition, salt content and free amino acids in dry-cured ham. *Meat Science* 88(2), 299–304.
- [36] Huang, H., Liu, L., Ngadi, M., O., Gariépy, C. (2014). Rapid and non-invasive quantification of intramuscular fat content of intact pork cuts. *Talanta* 119, 385-395.
- [37] Hounsfield, G. N., (1973). Computerized transverse axial scanning (tomography) Part I: description of system. *British Journal of Radiology* 46, 1016-1022.
- [38] Hounsfield, G. N., (1980). Computed medical imaging: Nobel lecture. *Journal of Computed Assisted Tomography* 4(5), 666-674.
- [39] López-Polín, L., Ollé, A., Cáceres, I., Carbonell, E., Bermúdez de Castro, J. M., (2008). Pleistocene human remains and conservation treatments: the case of a mandible from Atapuerca (Spain). *Journal of Human Evolution* 54(5), 539-545.
- [40] Duchesne, M. J., Moore, F., Long, B. F., Labrie, J. (2009). A rapid method for converting medical computed tomography scanner tomogram attenuation scale to Hounsfield unit scale and to obtain relative density values. *Engineering Geology* 103 (3-4), 100-105.
- [41] Vestergaard, C., Erbou, S. G., Thauland, T., Adler-Nissen, J., Berg, P. (2005). Salt distribution in dry-cured ham measured by

- computed tomography and image analysis. *Meat Science* 69(1), 9-15.
- [42] Skjervold, H., Gronseth, K., Vangen, O., Evensen, A. (1981). In vivo estimation of body composition by computerized tomography. *Zeitschrift fuer Tierzuechtung und Zuechtungsbiologie* 98(1), 77-79.
- [43] Luiting, P., Kolstad, K., Enting, H., Vangen, O. (1995). Pig breed comparison for body composition at maintenance: analysis of computerized tomography data by mixture distributions. *Livestock Production Science* 43(3), 225-234.
- [44] Toldi, G., Molnár, A., Németh, T., Kukovics, S. (2007). Slaughter value evaluation of large weight Ile de France and Hungarian Merino lambs by CT and traditional slaughter cutting. In: *Evaluation of carcass and meat quality in cattle and sheep*, vol. 123. EAAP Publication, pp. 201-204.
- [45] Romvári, R., Dobrowolski, A., Repa, I., Allen, P., Olsen, E., Szabó, A., Horn, P. (2006). Development of a computed tomographic calibration method for the determination of lean meat content in pig carcasses. *Acta Veterinaria Hungarica* 54(1), 1-10.
- [46] Font-Furnols, M., Teran, F., Gispert, M. (2009). Estimation of lean meat content in pig carcasses using X-ray computed tomography images and PLS regression. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 98(1), 31-37.
- [47] Rye, M. (1991). Prediction of carcass composition in Atlantic salmon by computerized tomography. *Aquaculture* 99(1-2), 35-48.
- [48] Kolstad, K., Mørkøre, T., Thomassen, M.S., (2008). Quantification of dry matter % and liquid leakage in Atlantic cod (*Gadus morhua*) using computerised x-ray tomography (CT). *Aquaculture* 275(1-4), 209-216.
- [49] Santos-Garcés, E., Gou, P., García-Gil, N., Arnau, Fulladosa, E. (2010). Non-destructive analysis of aw, salt and water in dry-cured hams during drying process by means of computed tomography, *Journal of Food Engineering* 101(2), 187-192.
- [50] Sørheim, O., Berg, S. A., (1987). Computed X-ray Tomography (ct) as a Non-destructive Method to Study Salt Distribution in

- meat. In *Rapid Analysis in Food Processing and Food Control*. Loen, Norway. p. 87.
- [51] Frøystein, T., Sørheim, O., Berg, S.A., Dalen, K., (1989). Salt distribution in cured hams, studied by computer X-ray tomography. *Fleischwirtschaft* 69(2), 220-222.
- [52] Fulladosa, E. Santos-Garcés, E., Picouet P., Gou, P. (2010). Prediction of salt and water content in dry-cured hams by computed tomography. *Journal of Food Engineering* 96(1), 80-85.
- [53] Antequera, T., Caro, A., Rodríguez, P. G., Pérez, T. (2007). Monitoring the ripening process of Iberian ham by computer vision on magnetic resonance imaging. *Meat Science* 76, 561-567.
- [54] Dress, A., Wenzel, W. (1990). Valuated matroids: a new look at the greedy algorithm, *Applied Mathematics Letters* 3(2), 33-35.
- [55] Pérez-Palacios, T., Antequera, T., Durán, M., Caro, A., Rodríguez, P., Palacios, R. (2011). MRI-based analysis of feeding background effect on fresh Iberian ham, *Food Chemistry*, 126(3), 1366-1372.
- [56] Cho, H. K., Choi, W. k., Paek, J. H. (2000). Detection of surface cracks in shell eggs by acoustic impulse method. *Transactions of the ASAE* 43(6), 1921-1926.
- [57] Diezma-Iglesias, B., Ruiz-Altisent, M., & Barreiro, P. (2004). Detection of internal quality in seedless watermelon by acoustic impulse response. *Biosystems Engineering*, 88(2), 221-230.
- [58] De Belie, N., Schotte, S., Coucke, P., De Baerdemaeker, J. (2000). Development of an automated monitoring device to quantify changes in firmness of apples during storage. *Postharvest Biology and Technology* 18, 1-8.
- [59] Diezma-Iglesias, B., Valero, C., García-Ramos, F. J., Ruiz-Altisent, M. (2006). Monitoring of firmness evolution of peaches during storage by combining acoustic and impact methods. *Journal of Food engineering*, 77, 926-935.
- [60] Zude, M., Herold, B., Roger, J-M., Bellon-Maurel, V., Landahl, S. (2006). Non-destructive tests on the prediction of apple fruit flesh firmness and soluble solids content on tree and in shelf life. *Journal of Food Engineering* 77, 254-260.

- [61] Conde, T., Cárcel, J. A., García-Pérez, J. V., Benedito, J. (2007). Non-destructive analysis of Manchego cheese texture using impact force-deformation and acoustic impulse-response techniques. *Journal of Food Engineering* 82, 238–245.
- [62] Mörlein, D., Rosner, F., Brand, S., Jenderka, K. V., Wicke, M. (2005). Non-destructive estimation of the intramuscular fat content of the longissimus muscle of pigs by means of spectral analysis of ultrasound echo signals. *Meat Science* 69, 187–199.
- [63] Zhang H., Wang J., Sheng Y., (2008) Predictions of acidity, soluble solids and firmness of pear using electronic nose technique. *Journal of Food Engineering* 86, 370-378.
- [64] Lerma-García, M.J., Cerretani, L., Cevoli, C., Simó-Alfonso, E.F., Bendini, A., Gallina, T. (2010). Use of electronic nose to determine defect percentage in oils. Comparison with sensory panel results. *Sensors and Actuators B* 147, 283-289.
- [65] Guohua, H., Lvy, W., Yanhong, M., Lingxia, Z. (2012). Study of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) quality predictive model based on electronic nose. *Sensors and Actuators B* 166-167, 301-308.
- [66] García, M., Aleixandre, M., Gutiérrez, J., Horrillo, M. C. (2006). Electronic nose for wine discrimination. *Sensors and Actuators B: Chemical* 113(2), 911-926.
- [67] El Barbri, N., Amari, A., Vinaixa, M., Bouchikhi, B., Correig, X., Llobet, E.(2007). Building of a metal oxide gas sensor-based electronic nose to assess the freshness of sardines under cold storage, *Sensors and Actuators B: Chemical* 128(1), 235-244.
- [68] García, M., Horrillo, M. C., Santos, J. P., Aleixandre, M., Sayago I., Fernández, M. J., Arés, L., Gutiérrez, J. (2003). Artificial olfactory system for the classification of Iberian hams. *Sensors and Actuators B* 96, 621-629.
- [69] Escuder-Gilabert, L., Peris, M. (2010). Review: Highlights in recent applications of electronic tongues in food analysis. *Analytica Chimica Acta* 665, 15-25.
- [70] Ghasemi-Varnamkhasti, M., Mohtasebi, S. S., M. Siadat. (2010). Biomimetic-based odor and taste sensing systems to food quality and safety characterization: An overview on basic principles and recent achievements. *Journal of Food Engineering* 100, 377-387.

- [71] Woertz, K., Tissen, C., Kleinebudde, P., Breitzkreutz, J. (2011). Taste sensing systems (electronic tongues) for pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics* 417, 256-271.
- [72] Anand, V., Kataria, M., Kukkar, V., Saharan, V., Choudhury, P. K. (2007). The latest trends in the taste assessment of pharmaceuticals. *Drug Discovery Today* 12, 257-265.
- [73] Krantz-Rülcker, C., Stenberg, M., Winquist, F., Lundström, I. (2001). Electronic tongues for environmental monitoring based on sensor arrays and pattern recognition: a review. *Analytica Chimica Acta* 426, 217-226.
- [74] Lvova, L., Kim, S. S., Legin, A., Vlasov, Y., Yang, J. S., Cha, G. S., Nama, H. (2002). All-solid-state electronic tongue and its application for beverage analysis. *Analytica Chimica Acta* 468, 303-314.
- [75] Martínez-Máñez, R., Soto, J., Garcia-Breijo, E., Gil, L., Ibáñez, J., Llobet, E. (2005). An "electronic tongue" design for the qualitative analysis of natural waters. *Sensors and Actuators B* 104 302-307.
- [76] Peres, A. M., Dias, L. G., Barcelos, T. P., Sá, J., Morais, A., Machado, S. C. (2009). An electronic tongue for juice level evaluation in non-alcoholic beverages. *Procedia Chemistry* 1, 1023-1026.
- [77] Hruskar, M., Major, N., Krpan, M. (2010). Application of a potentiometric sensor array as a technique in sensory analysis. *Talanta* 81, 398-403.
- [78] Lvova, L., Paolesse, R., Di Natale, C., do D'Amico, A. (2006). Detection of alcohols in beverages: An application of porphyrin-based Electronic tongue. *Sensors and Actuators B* 118, 439-447.
- [79] Rudnitskaya, A., Rocha, S.M., Legin, A., Pereira, V., Marques, J.C. (2010). Evaluation of the feasibility of the electronic tongue as a rapid analytical tool for wine age prediction and quantification of the organic acids and phenolic compounds. The case-study of Madeira wine. *Analytica Chimica Acta* 662, 82-89.
- [80] Polshina, E., Rudnitskayab, A., Kirsanov, D., Legin, A., Saison, D., Delvaux, F., Delvaux, F. R., Nicolai, B. M., Lammertyn, J. (2010). Electronic tongue as a screening tool for rapid analysis of beer. *Talanta* 81, 88-94.

- [81] Rudnitskaya, A., Kirsanov, D., Legin, A., Beullens, K., Lammertyn, J., Nicolai, B. M., Irudayaraj, J. (2006). Analysis of apples varieties - comparison of electronic tongue with different analytical techniques. *Sensors and Actuators B* 116, 23-28.
- [82] Kantor, D. B., Hitka, G., Fekete, A., Balla, C. (2008). Electronic tongue for sensing taste changes with apricots during storage. *Sensors and Actuators B* 131, 43-47.
- [83] Beullens, K., Mészáros, P., Vermeir, S., Kirsanov, D., Legin, A., Buysens, S., Cap, N., Nicolai, B. M., Lammertyn, J. (2008). Analysis of tomato taste using two types of electronic tongues. *Sensors and Actuators B* 131 10-17.
- [84] Peres, A. M., Dias, L. G., Veloso, C. A., Meirinho, S. G., Morais, J., Machado, C. (2011). An electronic tongue for gliadins semi-quantitative detection in foodstuffs. *Talanta* 83, 857-864.
- [85] Wei, Z., Wang, J., Liao, W. (2009). Technique potential for classification of honey by electronic tongue. *Journal of Food Engineering* 94, 260-266.
- [86] Gil, L., Barat, J. M., García-Breijo, E., Ibañez, J., Martínez-Máñez, R., Soto, J., Llobet, E., Brezmes, J., Aristoy, M. C., Toldrá F. (2008). Fish freshness analysis using metallic potentiometric electrodes. *Sensors and Actuators B* 131, 362-370.
- [87] Barat, J. M., Gil, L., García-Breijo, E., Aristoy, M. C., Toldrá, F., Martínez-Máñez, R., Soto, J. (2008). Freshness monitoring of sea bream (*Sparus aurata*) with a potentiometric sensor. *Food Chemistry* 108, 681-688.
- [88] Gil, L., Barat, J.M., Baigts, D., Martínez-Máñez, R., Soto, J., Garcia-Breijo, E., Aristoy, M-C., Toldrá, F., Llobet, E. (2011) Monitoring of physical-chemical and microbiological changes in fresh pork meat under cold storage by means of a potentiometric electronic tongue. *Food Chemistry*, 126(3), 1261-1268.
- [89] Buffle, J., Tercier-Waeber, M. (2005). Voltammetric environmental trace-metal analysis and speciation: From laboratory to in situ measurements. *Analytical Chemistry* 24, 172-191.
- [90] Pigani, L., Foca, G., Ionescu, K., Martina, V., Ulrici, A., Terzi, F., Vignali, M., Zanardi, C., Seeber, R. (2008). Amperometric sensors based on poly (3,4-ethylenedioxythiophene) modified

- electrodes: Discrimination of white wines. *Analytica Chimica Acta* 61,4 213-222.
- [91] Pigani, L., Foca, G., Ulrici, A., Ionescu, K., Martina, V., F. Terzi, Vignali, M., Zanardi, C., Seeber, R. (2009). Classification of red wines by chemometric analysis of voltammetric signals from PEDOT-modified electrodes. *Analytica Chimica Acta* 643, 67-73.
- [92] Parra, V., Hernando, T., Rodríguez-Méndez, M. L, De Saja, J. A. (2004). Electrochemical sensor array made from bisphthalocyanine modified carbon paste electrodes for discrimination of red wines. *Electrochimica Acta* 49, 5177-5185.
- [93] Gay, M., Apetrei, C., Nevares, I., Del Alamo, M., Zurro, J., Prieto, N., De Saja, J. A., Rodríguez-Méndez, M. L. (2010). Application of an electronic tongue to study the effect of the use of pieces of wood and micro-oxygenation in the aging of red wine. *Electrochimica Acta* 55 6782-6788.
- [94] Schreyer, S. K., Mikkelsen, S. R. (2000). Chemometric analysis of square wave voltammograms for classification and quantitation of untreated beverage samples. *Sensors and actuators B* 71, 147-153.
- [95] Arrieta, A. A., Apetrei, C., Rodríguez-Méndez, M. L., De Saja J. A. (2004). Voltammetric sensor array based on conducting polymer-modified electrodes for the discrimination of liquids. *Electrochimica Acta* 49, 4543-4551.
- [96] Arrieta, A. A., Rodríguez-Méndez, M. L., De Saja J. A., Blanco, C. A., Nimubona, D. (2010). Prediction of bitterness and alcoholic strength in beer using an electronic tongue. *Food Chemistry* 123, 642-646.
- [97] Ivarsson, P., Holmin, S., Höjer, N.-E., Krantz-Rülcker, C., Winquist, F. (2001). Discrimination of tea by means of a voltammetric electronic tongue and different applied waveforms. *Sensors and Actuators B* 76, 449-454.
- [98] Palit, M., Tudub, B., Bhattacharyya, N., Dutta, A., Dutta, P. K., Jana, A., Bandyopadhyay, R., Chatterjee, A. (2010). Comparison of multivariate preprocessing techniques as applied to electronic tongue based pattern classification for black tea. *Analytica Chimica Acta* 675, 8-15.
- [99] Palit, M., Tudub, B., Dutta, P. K., Dutta, A., Jana, A., Roy, J. K., Bhattacharyya, N., Bandyopadhyay R., Chatterjee, A. (2010).

- Classification of Black Tea Taste and Correlation with Tea Taster's Mark Using Voltammetric Electronic Tongue. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement* 59, 2230-2239.
- [100] Winquist, F., Bjorklun, R., Krantz-Rülcker, C., Lundströma, I., Östergren, K., Skoglund, T. (2005). An electronic tongue in the dairy industry. *Sensors and Actuators B* 111-112 299-304.
- [101] Winquist, F., Krantz-Rülcker, C., Wide, P., Lundström, I. (1998). Monitoring of freshness of milk by an electronic tongue on the basis of voltammetry. *Measurement Science and Technology* 9, 1937-1946.
- [102] Labrador, R. H., Masot, R., Alcañiz, M., Baigts, D., Soto, J., Martínez-Mañez R., García-Breijo, E., Gil, L., Barat, J. M. (2010). Prediction of NaCl, nitrate and nitrite contents in minced meat by using a voltammetric electronic tongue and an impedimetric sensor. *Food Chemistry* 122, 864-870.
- [103] Rodríguez-Méndez, M. L., Gay, M., Apetrei, C., De Saja, J. A. (2009). Biogenic amines and fish freshness assessment using a multisensor system based on voltammetric electrodes. Comparison between CPE and screen-printed electrodes. *Electrochimica Acta* 54, 7033-7041.
- [104] Macdonald, J., Barsoukov, E. (2005). *Impedance Spectroscopy. Theory. Experiment and Applications*, 2nd Edition, John Wiley & Sons, Inc. 2005.
- [105] Wu, L., Ogawa, Y., Tagawa, A. (2008). Electrical impedance spectroscopy analysis of eggplant pulp and effects of drying and freezing-thawing treatments on its impedance characteristics. *Journal of Food Engineering* 87, 274-280.
- [106] Geddes, L. A., Baker, L. E. (1989). *Principles of Applied Biomedical Instrumentation*. Wiley-Interscience.
- [107] Bard, A. J., Faulkner, L. R. (2001). *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, Inc.
- [108] Fuentes, A., Vázquez-Gutiérrez, J., Pérez-Gago, M., Vonasek, E., Nitin, N., Barrett, D., (2014). Application of nondestructive impedance spectroscopy to determination of the effect of temperature on potato microstructure and texture, *Journal of Food Engineering*, 133, 16-22.

- [109] Guerrero, L., Gobantes, I., Oliver, M., Arnau, J., Guàrdia, M., Elvira, J., Riu, P., Grèbol, N., Monfort, J. (2004). Green hams electrical impedance spectroscopy (EIS) measures and pastiness prediction of dry cured hams. *Meat Science* 66(2), 289-294.
- [110] Fernández-Segovia, I., Fuentes, A., Aliño, M., Masot, R., Alcañiz, M., Barat, J. (2012). Detection of frozen-thawed salmon (*Salmo salar*) by a rapid low-cost method, *Journal of Food Engineering* 113(2), 210-216.
- [111] Fuentes, A., Masot, R., Fernández-Segovia, I., Ruiz-Rico, M., Alcañiz, M., Barat, J. (2013). Differentiation between fresh and frozen-thawed sea bream (*Sparus aurata*) using impedance spectroscopy techniques. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 19, 210-217.
- [112] Oliver, M., Gobantes, I., Arnau, J., Elvira, J., Riu, P., Grèbol, N., Monfort, J. (2001). Evaluation of the electrical impedance spectroscopy (EIS) equipment for ham meat quality selection. *Meat Science* 58(3), 305-312.
- [113] Karásková, P., Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Alcañiz, M., Masot, R., Barat, J. (2011). Development of a low-cost non-destructive system for measuring moisture and salt content in smoked fish products, *Procedia Food Science* 1, 1195-1201.
- [114] Jolliffe, I.T. (1986). *Principal Component Analysis*. Springer, New York.
- [115] Brezmes, J. (2001). Tesis Doctoral: Diseño de una nariz electrónica para la determinación no destructiva del grado de maduración de la fruta. Universitat Politècnica de Catalunya.
- [116] Wold, S., Geladi, P., Jerker, E. (1987). Multi-way principal components-and PLS-analysis. *Journal of Chemometrics* 1(1), 41-56.
- [117] Barker, M., Rayens, W. (2003). Partial least squares for discrimination. *Journal of Chemometrics* 17, 166-173.
- [118] Cruz, J. (2008). El sector jamonero se confirma como el más dinámico dentro de la industria cárnica española. *Eurocarne* 166, 1-8.
- [119] Cruz, J. (2010). El crecimiento del consumo y las exportaciones hacen augurar cierta recuperación del sector jamonero. *Eurocarne* 189, 41-50.

- [120] Masot, R. (2010). Tesis Doctoral: Desarrollo de un sistema de medida basado en espectroscopia de impedancia para la determinación de parámetros fisicoquímicos en alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. (2010).
- [121] Gil, L. (2007). Tesis Doctoral: Diseño de lenguas electrónicas potenciométricas construidas con electrodos metálicos y con tecnología de capa gruesa para análisis de medios complejos. Universidad Politécnica de Valencia.
- [122] Alcañiz, M. (2011). Tesis Doctoral: Diseño de un sistema de lengua electrónica basado en técnicas electroquímicas voltamétricas y su aplicación en el ámbito agroalimentario. Universidad Politécnica de Valencia. (2011).
- [123] AOAC. (1997). Official Methods of analysis (16th ed.). Arlington, Virginia: Association of Official analytical Chemists.
- [124] ISO Norm R-1443, International Standards Organisation (1973). Determination of lipids.
- [125] Grau, R., Albarracín, W., Pérez. M. T., Antequera, T., Barat, J.M. (2011). Use of simultaneous brine thawing/salting in dry-cured Iberian ham production. *Journal of Food Engineering*, 104, 316-321.
- [126] Grau, R. (2009). Tesis Doctoral. Salado y descongelado simultáneo en salmuera para la obtención de jamón curado de cerdo deraza ibérica. Universidad Politécnica de Valencia. (2009).
- [127] AENOR. (2004). Norma UNE EN-ISO 6887-3 Microbiología de alimentos para consumo humano y animal. Preparación de las muestras de ensayo, suspensión inicial y diluciones decimales para el examen microbiológico.
- [128] AENOR. (2003). Norma UNE EN-ISO 4883. Microbiología de alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Técnica de recuento de colonias a 30°C. Ed. AENOR, Madrid, España.
- [129] Pascual, M.R, Calderón V. 2000. Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas. Díaz de Santos, Madrid, España.
- [130] Cordero, M.R., Zumalacárregui, J.M. 2000. Characterization of Micrococcaceae isolated from salt used for Spanish dry-cured ham. *Letters in Applied Microbiology* 31: 303-306.

- [131] International Organization for Standardization. (1998). ISO norm 15214. Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria.
- [132] Tomlinson, I.A. Food and Drug Administration: bacteriological analytical manual. AOAC International, 1995.
- [133] Rizo, A., Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Masot, R., Alcañiz, M., Barat, J. (2013). Development of a new salmon salting–smoking method and process monitoring by impedance spectroscopy. *LWT - Food Science and Technology* 51(1), 218-224.
- [134] R. Masot, M. Alcañiz, A. Fuentes, F.C. Schmidt, J.M. Barat, L. (2010). Design of a low-cost non-destructive system for punctual measurements of salt levels in food products using impedance spectroscopy. *Sensors and Actuators A*, 158, 217-223.
- [135] Ivorra, E., Girón, J., Sánchez A., Verdú, S., Barat, J.M., Grau, R. (2013). Detection of expired vacuum-packed smoked salmon based on PLS-DA method using hyperspectral images. *Journal of Food Engineering* 117, 342-349.
- [136] Holland, J. (1975). *Adaptation in Natural Selection and Artificial Systems*. Ann Arbor, Michigan, The University of Michigan Press.
- [137] Ruíz-Ramírez, J., Arnau, J., Serra, X., Gou, P. (2005). Relationship between water content, NaCl content, pH and texture parameters in dry-cured muscles. *Meat Science* 70 579-587.
- [138] Leistner, L. (1986). Allgemeines über Rohschinken. *Fleischwirtsch.* 66(4): 496-510.
- [139] Newton, K.G. and Gill, C.O. (1981). The microbiology of DFD fresh meat: A review. *Meat Sci.* 5(3): 223-232.
- [140] Guerrero, L., Arnau, J. und Garriga, M (1991). Rohschinkenherstellung: Rohstoff-Qualitätskontrolle als Massnahme zur Minderung der Verluste.
- [141] Coutron-Gambotti, C., Gandemer, G., Rousset, S., Maestrini, O., Casabianca, F. (1999). Reducing salt content of dry-cured ham: effect on lipid composition and sensory attributes. *Food Chemistry* 64(1), 13-19.

- [142] Grau, R., Albarracín, W., Toldrá, F., Antequera, T., Barat, J. (2008). Study of salting and post-salting stages of fresh and thawed Iberian hams. *Meat Science* 79, 677-682.
- [143] Damez, J. L., Clerjon, S., Abouelkaram, S., Lepetit, J. (2008). Electrical impedance probing of the muscle food anisotropy for meat ageing control. *Food Control* 19(10), 931-939.
- [144] Pérez-Esteve, E., Fuentes, A., Grau, R., Fernández-Segovia, I., Masot, R., Alcañiz, M., Barat, J. (2014). Use of impedance spectroscopy for predicting freshness of sea bream (*Sparus aurata*). *Food Control* 35(1), 360-365.
- [145] Damez, J. L., Clerjon, S., Abouelkaram, S., Lepetit J. (2008). Beef meat electrical impedance spectroscopy and anisotropy sensing for non-invasive early assessment of meat ageing. *Journal of Food Engineering* 85 116-122.
- [146] Marchello, M. J., McLennan, J. E., Dhuyvetter, D. V., Slinger, W. D. (1999). Determination of saleable product in finished cattle and beef carcasses utilizing bioelectrical impedance technology. *American Society of Animal. Science*, 77(11), 2965-2970.
- [147] Barat, J., Grau, R., Ibáñez, J., Fito, P. (2005). Post-salting studies in Spanish cured ham manufacturing. Time reduction by using brine thawing-salting. *Meat Science* 69, 201-208.
- [148] Gou P., Comaposada, J. (2000). La transferencia de sal en el interior del jamón curado. *Eurocarne* 86, 35-44.
- [149] Ventanas, J. (2001). Tecnología del jamón Ibérico: de los sistemas tradicionales a la explotación racional del sabor y el aroma. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 423-437.
- [150] Arnau, J., Guerrero L., Casademont G., Gou, P. (1995). Physical and chemical changes in different zones of normal and PSE dry-cured ham during processing. *Food chemistry* 52, 63-69.
- [151] Ordóñez, J. A., Cambero, M.,I., Fernández, L., García, L., García de Fernando, G., De la Hoz L., Selgas, D. (1998). Tecnología de los alimentos. Vol I Madrid: Síntesis.
- [152] Grau, R., Clemente, G., Albarracín, W., Barat, J. (2007). Study of the Influence of Product and Process Variables in the Salting and Post-salting Stages of PSE Thawed Hams. *International Journal of Food Engineering* 3(5), 11-16.

- [153] United States Department of Agriculture (USDA)-Food safety and Inspection Service (FSIS). (2005). Principles of Preservation of Shelf-Stable Dried Meat Products, p. 156-170.
- [154] Jóciles, A., Herrero, H., Larriba, G. 1983. Evolución de la flora microbiana durante la maduración del jamón ibérico. IX cong. Nac. Microbiol. Valladolid: 469, 997-998.
- [155] Molina, I., Silla, H., Flores, J., Monzo, J. 1989. Study of the microbial flora in dry-cured ham II Micrococcaceae. *Fleischwirtschaft*, 69, 1433-1434.
- [156] Martín, A., Benito, M. J., Hernandez, A., Pérez-Nevado, F., Córdoba, J. J., Córdoba, M.G. (2008). Characterisation of microbial deep spoilage in iberian dry-cured ham. *Meat Science*, 78, 475-484.
- [157] Cranny, A., Harris, N.R., Nie, M., Wharton, J.A., Wood, R.J.K., Stokes, K.R. (2011). Screen-printed potentiometric Ag/AgCl chloride sensors: Lifetime performance and their use in soil salt measurements. *Sensors and Actuators A: Physical*, 169 (2), 288-294.
- [158] Cranny, A., Harris, N.R., White, N.M., Barrett-Lennard, E., Coles, N., Rivers, M., Smettem, K., Wu, J. (2012). Screen-Printed Potentiometric Sensors for Chloride Measurement in Soils. *Procedia Engineering*, 47, 1157-1160.
- [159] Kaneki, K., Miura, T., Shimada, K., Tanaka, H., Ito, S., Hotori, K., Akasaka, C., Ohkubo, S., Asano, Y. (2004). Measurement of pork freshness using potentiometric sensor. *Talanta*, 62, 217-221.
- [160] Giovanelli, D., Lawrence, N.S., Wilkins, S.J., Jones, T.G.J., Compton, R.G. (2003). Anodic stripping voltammetry of sulphide at a nickel film: towards the development of a reagentless sensor. *Talanta*, 61 (2), 211-220.
- [161] Giovanelli, D., Lawrence, N.S., Jones, T.G.J., Compton, R.G. (2003). Amperometric determination of sulfide at a pre-oxidised nickel electrode in acidic media. *Analyst*, 128, 173-177.