



Universidad de Valladolid

**FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA**

TESIS DOCTORAL

**APLICACIÓN DE LA TECNOLOGÍA NIRS PARA LA
DETERMINACIÓN DE SODIO Y PARÁMETROS
IMPLICADOS EN EL PROCESO INDUSTRIAL DEL
JAMÓN CURADO**

Presentada por **M^a Isabel Campos Labadie** para optar al grado
de Doctor por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:

Dr. Luis Debán Miguel y Dr. Rafael Pardo Almudí

Departamento de Química Analítica

Universidad de Valladolid

Dr. Gregorio Antolín Giraldo

Centro Tecnológico CARTIF

Valladolid 2015

Preámbulo

Gran parte de la investigación expuesta en este trabajo de tesis doctoral se corresponde con la consecución del Proyecto *“Estudio y desarrollo de un proceso para la reducción del contenido de sal en jamón curado. Puesta a punto de un sistema de evaluación del contenido de sal en jamón curado loncheado con Tecnología NIRS”*, subvencionado por el Subprograma INNPACTO 2011 del Ministerio de Economía y Competitividad de España, en el que han colaborado la compañía CAMPOFRÍO FOOD GROUP, S.L. y el CENTRO TECNOLÓGICO CARTIF.

CAMPOFRÍO es un grupo internacional de alimentación y nutrición, que representa un estándar en el sector de las carnes procesadas, con una clara vocación de compañía global y firmemente comprometida con la investigación y el desarrollo, provista de las más avanzadas tecnologías.

Agradecer a CAMPOFRÍO que me haya permitido presentar los trabajos realizados durante el Proyecto INNPACTO y a las personas de la empresa que han colaborado estrechamente en su desarrollo, D. Jesús Rodríguez, D. Fernando Gil, D. Eduardo Benito y en especial, D. Roberto Rodríguez y D^a. Ana M^a Arnaiz.

CARTIF es un Centro Tecnológico horizontal, vinculado a la Universidad de Valladolid, está especializado en dar soluciones integrales a las empresas, contribuyendo así al desarrollo de su entorno económico y social a través del uso y fomento de la innovación tecnológica, mediante el desarrollo y la difusión de la investigación. Y en su empeño por formar a sus investigadores, ha contribuido al desarrollo de este trabajo de tesis, formándome como doctora para continuar con nuestra labor en I+D+i.

Esta tesis doctoral representa parte de mi trabajo realizado durante los últimos 4 años en CARTIF, por lo que en cierto modo pertenece a los equipos de investigación y de gestión que de alguna manera han tenido influencia en su

desarrollo y que sin su ayuda no hubiera sido posible. Agradecer de forma especial al Director General de CARTIF, D. José Ramón Perán González y al Director de División, D. Gregorio Antolín Giraldo su apoyo al poner a mi alcance todos los medios disponibles del centro para el desarrollo de esta tesis doctoral y de mi carrera profesional.

A mi familia

A mi hermano Andrés

Agradecimientos

Deseo expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas e Instituciones, en especial a CARTIF, que han hecho posible la realización de esta tesis.

A mis profesores, Luis y Rafa, porque con ellos han sido todo facilidades. A Goyo por facilitarme este Proyecto con el que he podido realizar mi trabajo de tesis doctoral. Y a Marisa por todas sus aportaciones.

A mi familia, por su incondicional apoyo y ánimo, y por todas esas tardes, fines de semana, fiestas y vacaciones que han cuidado de mis niños para hacer esto posible.

A Poli por su amor y paciencia. A mis hijos, Juan y Benjamín, por haber pasado este periodo sin que mamá estuviera en todo momento con ellos. Yo también os he echado de menos.

Y a mis "Apersonas", que me han apoyado, ayudado y aguantado durante todo el camino, ellos saben quiénes son.

Gracias a todos

Resumen

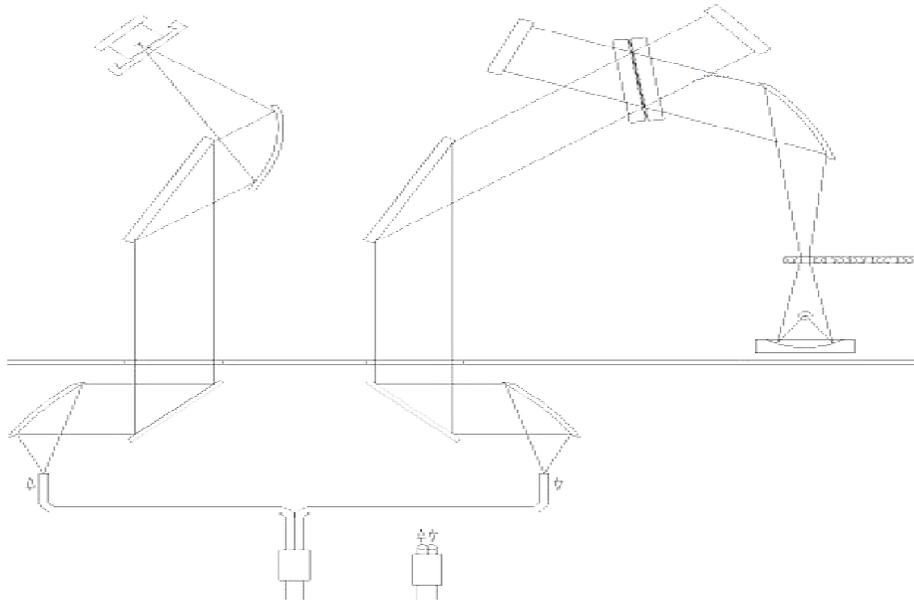
El presente trabajo de tesis doctoral muestra la **evaluación del potencial de la Espectroscopia de Infrarrojo Cercano (NIRS) como herramienta de análisis aplicada a la industria del jamón curado.**

La finalidad de este trabajo ha consistido en demostrar la viabilidad de la tecnología NIRS para el control de procesos y productos en tiempo real, permitiendo minimizar los tiempos de análisis, adecuándose a las líneas de producción y aportando información sobre cada uno de los productos obtenidos. En primer lugar, se han desarrollado varias aplicaciones de medida on-line sobre producto final, para la determinación de sodio en jamón curado loncheado y en piezas enteras, que permite su clasificación en función de dicho parámetro. En segundo lugar, se ha aplicado dicha tecnología para el control y seguimiento del proceso de curación del jamón con contenido reducido en sodio.

La optimización de los procesos mediante un **sistema de medida on-line** que permitan obtener un control en la calidad y seguridad de los productos finales, incluidos los productos fraccionados como son los deshuesados y loncheados, y por otro lado, **el reducir y conseguir el punto óptimo de sal** en el jamón curado, **ha supuesto una mejora tecnológica en el proceso de obtención de un producto tradicional de alto valor añadido**, contribuyendo dentro del Programa Estatal de Investigación, Desarrollo e Innovación Orientada a los Retos de la Sociedad, en el marco del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2013-2016, al Reto social (R2) Seguridad y calidad alimentarias; actividad agraria productiva y sostenible, recursos naturales, investigación marina y marítima y está alineado con los objetivos que se pretenden conseguir en el Horizonte 2013-2020 dentro de este Reto social.

Los resultados derivados de esta tesis doctoral abren una vía de investigación aplicada hacia la incorporación de la tecnología NIRS al control de parámetros durante el proceso de curación del jamón sobre las piezas intactas. Para ello, se ha presentado en la **convocatoria de Retos Colaboración 2015 del Ministerio de Economía y Competitividad** el **Proyecto SERRANO** que pretende **garantizar la calidad y homogeneidad de cada una de las piezas cárnicas al final de su proceso de elaboración**, basándose en el seguimiento y control de dos factores que marcan la diferencia en un jamón correctamente curado, como son el grado de curación y la textura final.

ÍNDICE



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	19
❖ El jamón curado y su proceso de elaboración	25
❖ Tecnología de Infrarrojo Cercano NIR	37
• <i>Fundamento teórico de la Espectroscopia de Infrarrojo Cercano</i>	39
• <i>Instrumentación</i>	45
• <i>Análisis quimiométrico de datos espectroscópicos NIR</i>	48
❖ Referencias bibliográficas	55
OBJETIVOS	61
❖ Objetivos generales	63
❖ Objetivos específicos	64
PLAN DE TRABAJO	65
CAPÍTULO 1. Aplicación de la tecnología NIRS para ampliar la información nutricional del producto jamón curado loncheado en función de su contenido en sodio	73
CAPÍTULO 2. Desarrollo de un sistema de medida on-line para catalogar las piezas de jamón curado en función de su contenido en sodio	133

CAPÍTULO 3. Evaluación del seguimiento del proceso de curación del jamón con contenido reducido en sodio mediante tecnología NIRS	161
CAPÍTULO 4. Aplicación de la Tecnología NIRS en la determinación del contenido de sodio en muestras de jamón curado loncheado con contenido reducido en sodio	229
CONCLUSIONES FINALES	249
ANEXOS	253
❖ Anexo 1. Valores de referencia de sodio y humedad para la calibración de ambos parámetros en muestras de jamón curado loncheado	255
❖ Anexo 2. Valores de referencia de sodio para la calibración de piezas enteras de jamón curado	260
❖ Anexo 3. Valores de referencia de los parámetros implicados en el proceso de curación de jamón con contenido reducido en sodio	264
• 3.1 Jamón magro en bandeja	264
• 3.2 Jamón graso en tina	269
❖ Anexo 4. Valores de referencia de sodio en muestras de jamón curado loncheado con contenido reducido en sodio	276

Glosario de acrónimos

1ª d. Primera derivada

2ª d. Segunda derivada

AESAN Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición

AFCA Asociación de Fabricantes y Comercializadores de Aditivos y Complementos Alimentarios

ANOVA Análisis de la varianza (ANalysis Of VAriance)

AOAC Asociación de comunidades analíticas (Association of Analytical Communities)

CDM Corrección multiplicativa de dispersión

CDR Consumo Diario Recomendado

CEDECARNE Confederación Española de Detallistas de la Carne

CEE Comunidad Económica Europea

EDC Eliminación de desnivel constante

ETG Especialidad Tradicional Garantizada

FAO Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization of the United Nations)

FIR Infrarrojo lejano (Far-Infrared)

FSA Agencia de Normas Alimentarias del Reino Unido (Food Standards Agency in UK)

FSAI Autoridad de Seguridad Alimentaria de Irlanda (Food Safety Authority of Ireland)

GFAAS Espectrofotometría de absorción atómica en cámara de grafito (Graphite furnace atomic absorption spectrometry)

ICP-AES Espectrofotometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy)

IP Índice de proteolisis

LSD Diferencia Significativa Mínima de Fisher (Fisher's Least Significant Difference)

MIR Infrarrojo medio (Mid-Infrared)

MLR Regresión lineal múltiple (Multiple Linear Regression)

N Tamaño de muestra

N mín-máx Normalización mínimo-máximo

NIR Infrarrojo Cercano (Near -Infrared)

NIRS Espectroscopía de Infrarrojo Cercano (Near Infrared Reflectance Spectroscopy)

NNP Nitrógeno no proteico

N_T Nitrógeno total

OMS/WHO Organización Mundial de la Salud (World Health Organization)

PC Componente Principal (Principal Component)

PCA Análisis de Componentes Principales (Principal Component Analysis)

PCR Regresión de Componentes Principales (Principal Component Regression)

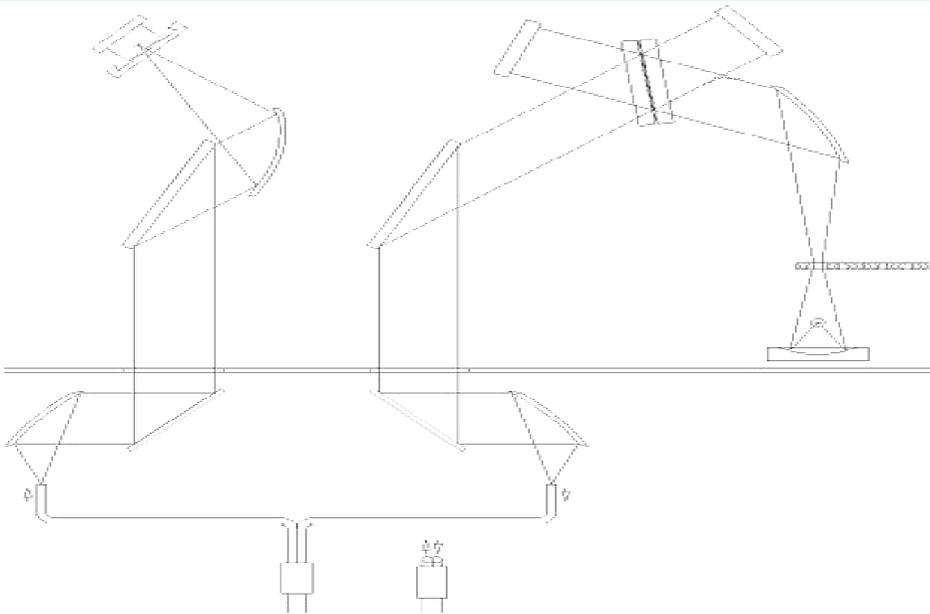
PLS Mínimos Cuadrados Parciales (Partial Least Squares)

PLSR Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales (Partial Least Squares Regression)

R² Coeficiente de determinación en calibración

R^2_{cv}	Coeficiente de determinación en Validación Cruzada
RMSEC	Raíz Media Cuadrática del Error Típico de Calibración (Root Mean Square Error of Calibration)
RMSEC	Raíz Media Cuadrática del Error Típico de Calibración (Root Mean Square Error of Calibration)
RMSEC	Raíz Media Cuadrática del Error Típico de Validación Cruzada (Root Mean Square Error of Cross Validation)
RMSEP	Raíz Media Cuadrática del Error Típico de Predicción (Root Mean Square Error of Prediction)
RPD	Desviación residual (Residual Predictive Deviation)
SD	Desviación estándar (Standard Desviation)
SECV	Error Típico de Validación (Standard Error of Cross Validation)
SEL	Error estándar del método de referencia (Standard Error of Laboratory)
SEP	Error Típico de Predicción (Standard Error of Prediction)
SLR	Sustracción de línea recta
SNV	Normalización vectorial (Standard Normal Variate)
UE	Unión Europea
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (United State Department of Agriculture)
UV	Ultravioleta
UVa	Universidad de Valladolid

INTRODUCCIÓN



INTRODUCCIÓN

El **alimento tradicional** forma parte de una importante categoría de productos dentro del mercado de alimentación europeo. Este grupo de productos representa un elemento clave en la ingesta diaria de alimentos, refleja la herencia cultural y en consecuencia ha dejado su huella en los hábitos alimenticios europeos actuales (Trichopoulou et al., 2007).

Actualmente, el mercado de la alimentación está centrado en la importancia del valor nutricional y de la relación entre alimentos y salud (Hersleth et al., 2011), lo que implica una gran demanda por parte del consumidor de productos que ofrezcan “algo más”, como un alto contenido en fibra, bajos en grasas saturadas, bajos en sal y reducidos en calorías. Se ha detectado que un fuerte interés en la salud está asociado a un bajo consumo de alimentos tradicionales, lo que sugiere que en un futuro, esta categoría de productos se perciba como alimentos poco adecuados desde el punto de vista de salud y valor nutricional. Ya en el año 2000 y ante esta expectativa, Jordana (2000) expuso que la mayor amenaza para el futuro de los alimentos tradicionales es una insuficiente adaptación a los requerimientos demandados por los consumidores. Sin embargo, existe todavía un antagonismo entre tradición e innovación, haciendo particularmente difíciles innovaciones aceptables para este tipo de alimentos.

En 1992, la Comisión Europea aprobó el Reglamento (CEE) 2082/92 relativo a la certificación de las características específicas de los productos agrícolas y alimenticios, cuyo objetivo es distinguir y proteger los alimentos tradicionales, otorgándoles el calificativo de Especialidad Tradicional Garantizada (ETG) y el derecho a usar un logo expresamente pensado para distinguir esos alimentos de los demás.

El Diario Oficial de las Comunidades Europeas L-291, de 13 de noviembre de 1999, publicó el Reglamento (CE) 2419/1999 por el que se inscribe al "Jamón Serrano" en el Registro de Especialidades Tradicionales Garantizadas (ETG), de acuerdo con el Reglamento (CEE) 2082/1992.

El "Jamón Serrano" se convirtió así en la primera Especialidad Tradicional Garantizada de la industria alimentaria española y también en la primera de la Unión Europea (UE) con reserva de nombre (art. 13.2 del Reglamento (CEE) 2082/1992).

Así pues, la concesión de la ETG para el "Jamón Serrano" supone el reconocimiento de un producto excepcional que España ha aportado al acervo gastronómico de la UE y que por sus especiales características y por su calidad intrínseca se ha hecho merecedor de la mejor distinción y protección que la legislación comunitaria le puede proporcionar.

España es uno de los países con una tradición más rica en la elaboración y consumo de los más variados embutidos y jamones. Las preferencias del consumidor español están encabezadas por los jamones curados, serranos e

La industria jamonera española produce unos 33 millones de piezas de jamón curado de cerdo blanco (sin incluir las paletas), que representan un valor económico de unos 1.500 M€.

ibéricos, siendo el primer elaborado cárnico de la cesta de la compra, con una cuota del 23 % en valor en los canales de alimentación dentro del mercado español. Representa el 19,5 % de todas las ventas

de elaborados cárnicos en volumen (Tabla 1) (<http://www.anice.es>) y el 32 % de la facturación total (Figura 1).

Tabla 1. Mercado de elaborados cárnicos en España (noviembre 2012-2013).

Producto	% sobre volumen
Jamón curado	19,5
Yorks	16,9
Salchichas	14
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)

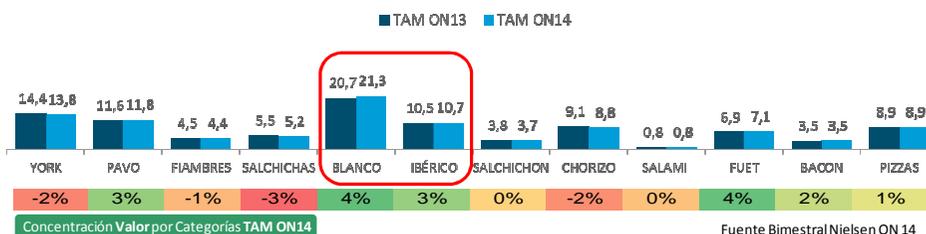


Figura 1. Participación por categorías de los elaborados cárnicos (octubre-noviembre 2014)

En el mercado español, en la categoría de jamón curado, blanco e ibérico, CAMPOFRÍO FOOD GROUP representa el 8,3 % en cuota de volumen (Figura 2).

Concretamente la categoría de jamón curado blanco representa el 9,0 % y el jamón ibérico el 5,5 %.

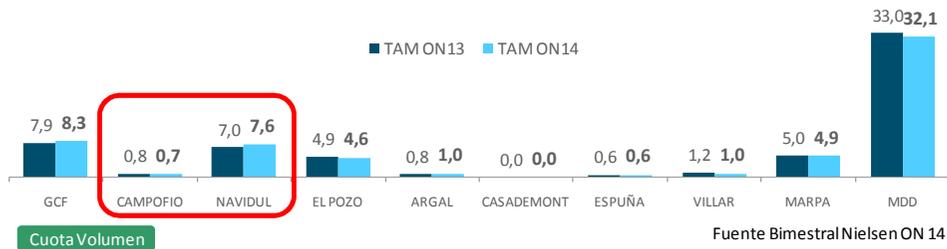


Figura 2. Participación por empresa de la cuota de mercado en volumen de jamón curado (blanco e ibérico) (octubre-noviembre 2014)

Tradicionalmente, el sector español de jamones y paletas, ha sido un sector muy atomizado, con pequeños y medianos operadores de carácter semi-artesanal. Aunque todavía quedan bastantes fabricantes que responden a ese perfil, durante los últimos años se han registrado movimientos de concentración que han contribuido a crear algunos grandes grupos que con una gran diversificación de sus ofertas y estrategias de comercialización, en las que el comercio exterior resulta fundamental, han sabido situarse en la cúpula empresarial.

Las exportaciones españolas, con 14.851 t, aumentaron un 10,1 % en los primeros seis meses del año 2014 con respecto al mismo periodo de 2013, en el que se dirigieron al exterior 13.490 t de jamón y paleta curados. Este incremento también se vio reflejado en el valor de esta actividad económica, alcanzando los 135 M€, un 10,2 % más que en el mismo periodo del año anterior.

En relación a los mercados, Alemania, Francia y Portugal, con un peso conjunto del 61,8 % durante 2014, siguen ocupando los primeros puestos, como mercados destino con 3.797, 3.660 y 1.727 t exportadas respectivamente. Tras ellos se sitúan Italia, con 1.295 t, Bélgica con 477 t, Holanda con 382 t y México con 340 t.

Por zona geográfica, hay que señalar que la UE sigue encabezando las exportaciones y representa el 83,1 % del total exportado, mostrando un crecimiento con respecto al mismo periodo del año anterior del 79,4 %.

En cuanto a los países de destino fuera de la Unión Europea hay que mencionar, por el apreciable aumento en las exportaciones de jamón y paleta curados, a Japón y Estados Unidos. Japón se sitúa en la décima posición, alcanzando la cifra de 228 t, lo que representa un crecimiento del 22 % con respecto al mismo periodo de 2013. Por su parte las exportaciones a Estados Unidos, mercado que ocupa la decimoprimer plaza del ranking, han aumentado un 18 % durante 2014, llegando a las 225 t.

Estos datos muestran el creciente potencial del mercado exterior del jamón curado, por lo tanto, considerando este nivel de exportaciones y el consumo ya existente en España, la industria jamonera debe plantearse innovaciones en sus procesos de elaboración que atiendan mejor la demanda del actual y del futuro consumidor.

❖ El jamón curado y su proceso de elaboración

El **jamón curado** es un alimento exquisito con singulares características nutricionales y dado su proceso natural de elaboración, no contiene colorantes ni aromatizantes y no requiere condiciones especiales de conservación. Aunque no existen alimentos que contengan todos los nutrientes esenciales para nuestro organismo, el jamón curado contribuye a cubrir muchos de ellos, ya que posee unas cualidades nutricionales y organolépticas que le hacen ser un buen alimento, dentro de una dieta equilibrada.

El jamón curado es una importante fuente de proteínas, la composición de sus aminoácidos es muy parecida a la composición que finalmente usamos en la

síntesis de nuestras propias proteínas, contiene todos los aminoácidos esenciales que el cuerpo no puede sintetizar y que nuestro organismo precisa. También aporta vitaminas del grupo B, especialmente B₁ (0,8 mg/100 g), B₂ (0,2 mg/100 g) y B₃, de la que 100 gramos de jamón proporcionan el 24 % del CDR (Consumo Diario Recomendado). Por ello, el consumo de jamón serrano contribuye a un buen funcionamiento del metabolismo, el sistema nervioso y el cerebro. Además es un alimento rico en minerales como hierro, zinc, potasio, calcio, y fósforo, del que puede aportar el 30 % del CDR.

El jamón serrano no tiene apenas hidratos de carbono y 100 gramos de jamón aportan únicamente unas 160 kcal. Esto hace que sea un alimento que puedan disfrutar tanto las personas que siguen una dieta normal como las que llevan dietas hipocalóricas.

Por otro lado, el jamón serrano tiene alrededor del 4,5 % de grasa y un contenido de sal comprendido entre el 5 y 6 %.

La **elaboración del jamón curado** ha constituido desde tiempos inmemoriales una forma de conservación de la carne mediante el salado y posterior secado. El producto que se obtiene al final del proceso viene condicionado por la materia prima utilizada y por el proceso tecnológico efectuado, por ello, desde hace décadas la industria del jamón curado, pese a tratarse de un producto tradicional, ha venido mecanizando los procesos de manipulación del producto para obtener unos rendimientos mayores. Existen distintas técnicas de fabricación de jamones curados, pero básicamente todas ellas pretenden, por una parte, estabilizar el producto para que pueda mantenerse a temperatura ambiente sin peligro para la salud ni riesgo de alteración y por otra, favorecer el desarrollo de las características sensoriales más deseadas (olor, color, textura y sabor).

1. Recepción y preparación de las materias primas

Verificación de las características higiénicas y de calidad

La calidad es el resultado del efecto combinado de la composición, las características de la materia prima y las condiciones y duración del procesado. En el jamón curado la materia prima representa más del 70 % de la calidad del producto final (Ventanas, 2012).

La cantidad de grasa y el peso del jamón constituyen criterios que son utilizados en la selección de la materia prima y determinan el tiempo de procesado del jamón.

En los jamones ibéricos y en los jamones serranos de larga curación, la presencia de grasa infiltrada y una cierta cantidad de grasa superficial frena el proceso de secado e impregna la musculatura, de forma que durante su consumo se favorece el proceso de masticación, confiriendo una sensación untuosa en la boca y un flavor añejo muy apreciado.

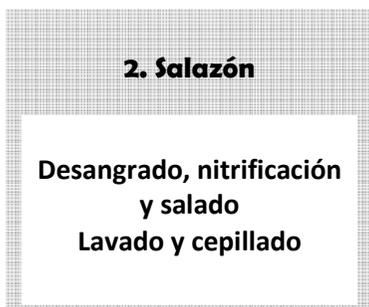
El pH de la carne constituye otro parámetro importante que se debe considerar, ya que afecta a la maduración del jamón, incluso dentro de un mismo jamón los valores de pH varían considerablemente entre músculos (Arnau et al., 1995). Un valor de pH por encima de 6,2 no es aconsejable, ya que conlleva riesgos de alteraciones microbiológicas y defectos de curación, como jamones blandos o pastosos.

La edad de los cerdos constituye otro aspecto a tener en cuenta, ya que puede afectar, entre otros, al color, la cantidad de grasa, la resistencia de los músculos a las tensiones del secado y la actividad de los enzimas proteolíticos (Sárraga et al., 1993). La elaboración de jamones curados se efectúa a partir de piezas enteras o

de partes del jamón. Las piezas enteras pueden ser presentadas de distintas formas, la pata entera es típica de los jamones ibéricos y de los serranos.

En España, a diferencia de otros países, es común realizar un corte de la corteza en forma de V. De este modo, no solo se consigue utilizar la corteza y la parte de la grasa para otros fines, sino que además se logra una mayor estandarización del espesor de grasa subcutánea y se facilita la retracción del magro durante el secado así como el corte de las lonchas de jamón. En los jamones españoles se mantiene el hueso coxal, que permite mantener la morfología de los músculos.

El jamón curado, por tanto, no es simplemente un producto salado y seco, sino que es un producto madurado; lo cual implica profundos cambios químicos y bioquímicos durante su procesado con una marcada influencia sobre la calidad (Ventanas, 2012). El proceso completo de elaboración del jamón curado engloba diferentes etapas: salazón, postsalado, secado y maduración.



La etapa de salado consiste en una incorporación de sal común o cloruro de sodio, asociada a diversos ingredientes o aditivos, cada uno de los cuales desempeña un papel complementario al de la sal, tales como la disminución de pH, reducción de la actividad de agua, formación de nuevos compuestos químicos, etc. (Girard, 1988). La sal es esencial para la elaboración del jamón curado, siendo además la principal sustancia permitida. El sodio juega un papel importante en las características de producto final, tanto organolépticas como tecnológicas. En relación con las propiedades finales del alimento (Bello, 2008), podemos destacar:

A. Acción sobre el sabor, para hacerlo más atractivo, aún en concentraciones reducidas. El gusto salado es aportado por el catión Na^+ libre,

aunque su intensidad viene dada por la dosis empleada. No es, sin embargo, únicamente el sabor salado lo que da importancia al sodio, sino su capacidad potenciadora de otros sabores o ingredientes.

B. Acción sobre las características del tejido muscular, interviniendo en las características de textura, al ejercer un doble efecto sobre sus proteínas miofibrilares. De este modo, la sal incrementa la hidratación de las proteínas y permite su solubilización que potencia unas excelentes capacidades ligantes.

C. Acción de conservación y seguridad microbiológica, la disponibilidad de agua en el alimento es un factor crítico en el crecimiento microbiano, la sal actúa provocando una reducción en la actividad de agua mediante la extracción por ósmosis del agua de las células, tanto del propio producto como del microorganismo en sí y por lo tanto, es capaz de frenar la multiplicación de muchos microorganismos, entre ellos y con especial importancia el *C. Botulinum*. Estos microorganismos son los causantes de alteraciones en el olor, sabor, textura o apariencia del jamón.

Por otro lado, entre las sustancias empleadas en la salazón intervienen, en menor proporción, nitratos y nitritos. La asociación de la sal con los nitratos facilita su penetración en la masa muscular, activando la evolución experimentada por los componentes químicos del jamón, hasta el punto de acelerar los procesos de salazón y de secado y acortar los tiempos requeridos para ambas fases. Se ha demostrado que el nitrato posee una actividad antimicrobiana muy específica, pues destruye las formas vegetativas de microorganismos anaerobios esporulados, tales como *Clostridium*, evitando así con seguridad las toxiinfecciones botulínicas (Lorés & Rabinal, 2012). Por otra parte, contribuye a la formación y estabilidad del color de curado, además de participar en el aroma de los productos curados y ejercer un cierto efecto antioxidante.

El nitrato está presente a niveles muy bajos en la carne (Wirth, 1984) y ha sido el agente nitrificante preferido en productos de larga maduración, ya que se va transformando en nitrito por acción bacteriana. Los nitritos pueden estar implicados en la formación de nitrosamina pero la baja cantidad de éstas no constituyen un riesgo potencial. Sin embargo, el riesgo del crecimiento de bacterias como el *Clostridium Botulinum* sí que suponen un riesgo sanitario.

Para facilitar la penetración de la sal, eliminar los restos de sangre presente y moldear el jamón se efectúa un masaje, que si bien puede hacerse manualmente, normalmente se suele llevar a cabo con máquinas. Con ello, se aumenta la superficie de absorción y se favorece la penetración de la sal.

El recubrimiento con sal debe realizarse tan pronto como la temperatura alcance un valor entre 1 y 3 °C, ya que con ello se logra inhibir el crecimiento de bacterias indeseables y disminuir el porcentaje de calas.

El proceso de salazón se puede hacer mediante salado individual de los jamones por su cara muscular (salado en bandeja) o bien mediante apilado en recipientes de acero inoxidable (salado en tina), durante un tiempo aproximado de 1 día/kg para los jamones refrigerados. El apilado ocasiona una presión que es especialmente elevada en los estratos inferiores, facilitando las pérdidas de agua, pero provoca diferencias de presión según la altura a la que se encuentren las piezas, con lo que se producen diferencias de salazón entre ellas según su posición. La sal que se suele emplear está húmeda y permite un salado correcto, también la humedad ambiental es elevada lo que evita el resecado y facilita la formación de una salmuera saturada en la superficie del jamón. Se recomienda mantener una elevada humedad ambiental, normalmente superior al 90 %.

Antiguamente, los jamones eran desalados mediante inmersión en agua para eliminar el exceso de sal adquirido durante el largo periodo de salazón. Sin

embargo, actualmente al poder mantener una temperatura constante entre 1 y 5 °C durante la fase de postsalado, se ha logrado disminuir la cantidad de sal añadida. En la elaboración industrial del jamón, el lavado se realiza únicamente para eliminar el exceso de sal exterior y las impurezas que pudieran quedar procedentes de la sal del proceso de salazón. Posteriormente se sopla el exceso de sal y se cepillan para eliminar la sal de los huecos donde haya podido quedar pegada. Al final del salado los vasos sanguíneos suelen contener una cierta cantidad de salmuera, por lo que es recomendable efectuar un ligero prensado para poder eliminarla junto con la sangre residual. Con el prensado y formateado se puede también mejorar la uniformidad del corte del producto.

3. Postsalado

Homogeneización del contenido de sal en cámaras controladas

Como las piezas no han alcanzado al final de la primera fase de salado un nivel de estabilización deseable, debido a que la sal no ha llegado aún a muchas de sus zonas interiores donde la humedad es elevada, puede ocurrir un desarrollo bacteriano. Por tanto, las piezas no pueden pasar directamente a los secaderos, donde las temperaturas son más elevadas, sino que se impone mantenerlas todavía durante un tiempo bajo la protección del frío.

La finalidad de la etapa de postsalado es conseguir un reparto de la sal por todo el jamón, al tiempo que se logra una ligera deshidratación. En el exterior del jamón, la flora se verá afectada por las condiciones de humedad ambiental, observando con frecuencia un crecimiento de flora fúngica, mientras que en el interior, las micrococáceas pasan a ser la flora dominante. En esta fase se aconseja efectuar una deshidratación más enérgica durante la primera y segunda semana, ya que interesa disminuir la actividad de agua superficial para frenar el crecimiento de

microorganismos indeseables. Las pérdidas de peso acumuladas obtenidas al final de esta etapa suelen oscilar entre el 10 y el 15 %. Para obtener un secado regular, la cantidad de agua que se evapora debe estar compensada por la difusión de agua del interior al exterior del jamón. La temperatura de esta fase debería ser inferior a los 5 °C hasta que en todos los puntos del jamón se haya alcanzado una actividad de agua inferior a 0,96 (Leistner, 1985).

4. Secado y maduración

Reducción en secaderos del contenido de agua desde el interior de la pieza hacia el exterior

Es importante que el proceso de salado continúe lentamente para que la difusión de la sal hacia el interior predomine sobre la difusión de agua hacia la superficie y solamente tenga lugar una ligera pérdida de agua a la vez que se consiga un cierto equilibrio en el gradiente de sal. La duración de la etapa de reposo es variable en función del tamaño de la pieza, la cantidad de magro exterior, el tipo de pulido y la grasa intermuscular e intramuscular.

A lo largo de todo el periodo anterior, las piezas han ido perdiendo agua por evaporación superficial, con el consiguiente incremento de la concentración salina en dicha zona al final de la fase de reposo. Sin embargo la fase tecnológica más delicada es la etapa de secado y maduración, que se lleva a cabo en secaderos o bodegas en los que tiene lugar el proceso de desecación paulatina, prosiguiendo los fenómenos de proteólisis y lipólisis que condicionan el aroma final.

Habitualmente se realiza un aumento creciente de la temperatura desde unos 10-12 °C hasta alcanzar un máximo de 28-30 °C. Al aumentar la temperatura se produce la fusión de la grasa interna que impregna el tejido muscular,

constituyendo una de las características típicas de los jamones. Sin embargo, en los últimos años se ha disminuido el tiempo de permanencia a alta temperatura para poder disminuir la incidencia de jamones con textura pastosa y velo blanco, que suponen un problema para la comercialización de productos loncheados. Por otro lado, es frecuente aplicar una fina capa de grasa que permite evitar el agrietado, el encortezado (jamones con textura externa acortezada y con un grado de curación incorrecto con zonas frescas en las zonas internas del jamón), la coquera (cavidad que aparece en la región de la articulación coxofemoral del cerdo) y el crecimiento de ácaros (formación de bolsas de ácaros en las posibles hendiduras y grietas de las piezas, principalmente en las coqueras, asociada algunas veces con el desarrollo microbiano, que produce modificaciones en la textura y desarrolla olores pútridos). Esta aplicación de grasa puede estar precedida de un lavado y secado de la superficie (Arnau, 1998).

5. Clasificación/Selección

Verificación y clasificación de las piezas en función de su textura, calado y conformación

En estas fases se procede a la verificación de las características de los productos por catadores profesionales que evalúan visual y olfativamente (calado) y mediante criterios objetivos como la determinación de la merma y la actividad de agua, si el jamón está en su grado óptimo de curado. De no ser así se puede proceder a introducirlos de nuevo en los secaderos y ampliar la fase de maduración hasta que el jamón alcance el punto correcto de secado.

La producción de jamón serrano está sujeta a la figura de calidad que representa la ETG del “Jamón Serrano” cuyo pliego de condiciones data del año 1999 (Reglamento (CEE) 2419/99) donde se recogen los requisitos mínimos de calidad que debe cumplir este producto. Esta ETG establece una calidad diferenciada que

se evidencia tanto en los requerimientos para la materia prima (con unos mínimos de peso y nivel de engrasamiento) y una duración del procesado superior a los 210 días (siete meses), como se recoge en el correspondiente Pliego de la ETG. Por lo tanto, aunque el tiempo mínimo de curación está en función del peso de cada pieza, nunca tiene que ser inferior a un periodo de siete meses desde la fecha del salado. Una vez concluidas todas las fases del proceso, las piezas curadas pueden ser consideradas estables y permanecer a temperatura ambiente.

6. Operaciones adicionales

**Deshuesado
Troceado-Loncheado
Envasado-Empaquetado
Almacenamiento**

En esta fase y una vez que el jamón ha alcanzado su estado óptimo de maduración, se le somete a varias operaciones adicionales, como puede ser deshuesado, troceado y/o loncheado, para su comercialización.

En la Figura 3 se representa las etapas de elaboración industrial del jamón curado.

Proceso de elaboración de Jamón curado

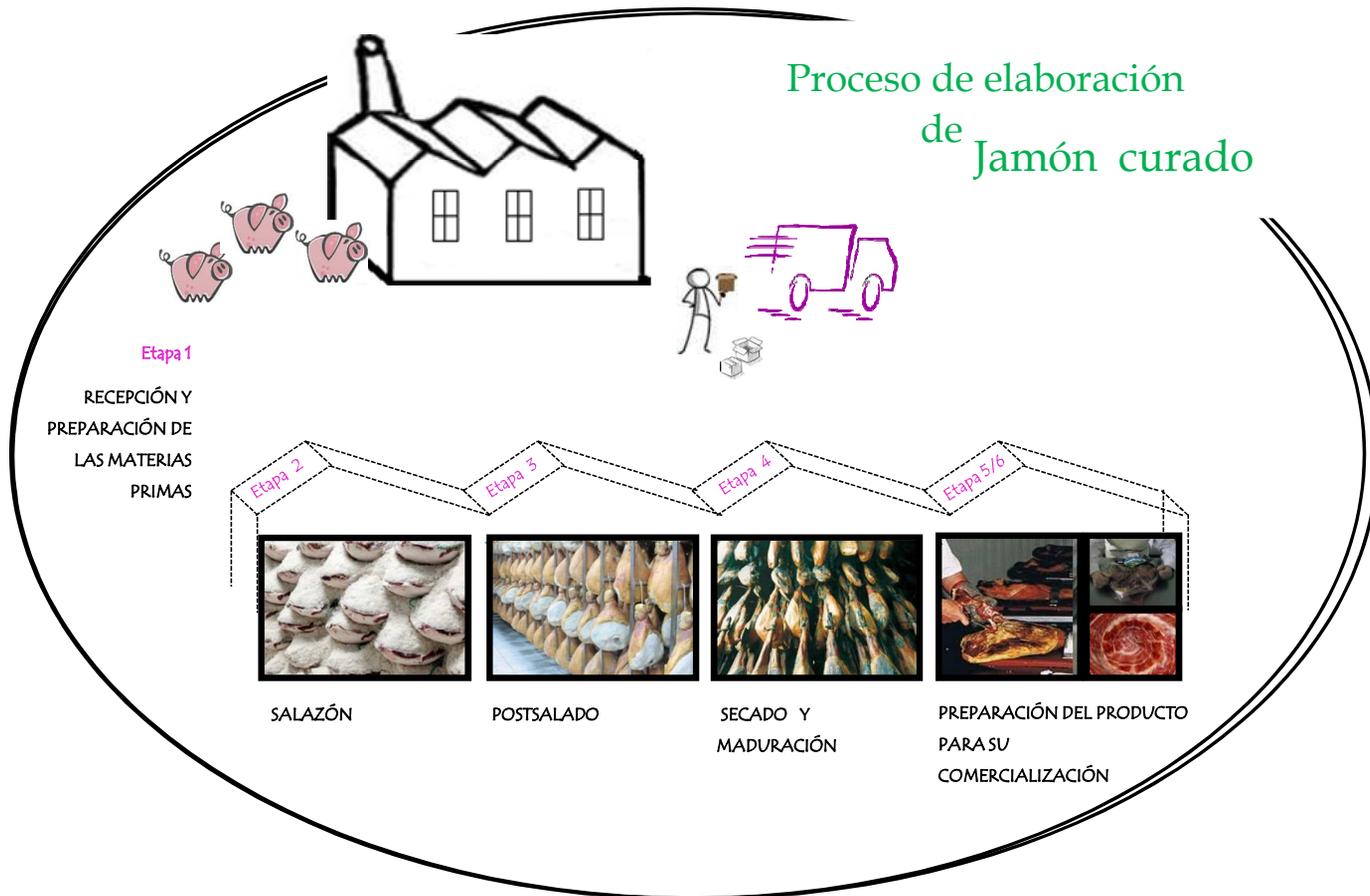


Figura 3. Proceso de producción de jamón curado

El jamón curado se considera un producto eminentemente español que aúna calidad y tradición. Uno de los mayores retos ante los que se encuentra este sector es la integración de este producto de la gastronomía tradicional en una dieta más saludable para el consumidor. Este producto suele contener entre un 5-6 % de sal, y aunque este ingrediente es esencial en el proceso de curación del jamón debido a sus propiedades como conservante y potenciador del flavor, aportando sabor salado, el exceso de sodio en la dieta influye directamente en la presión arterial y por tanto, debe ser tenido en cuenta por las personas con problemas cardiovasculares.

Por esta razón, la industria cárnica y concretamente la del jamón curado, está invirtiendo tiempo y esfuerzo en lograr **reducir el sodio** de sus productos, mediante procesos de sustitución parcial del cloruro de sodio por sales de otros metales que aporten las mismas cualidades reduciendo los problemas de salud derivados de la ingesta de sodio.

La modificación de las sales de curado se plantea a través de la reducción de sales de sodio junto con la incorporación en el proceso de salazón de los jamones de otras sales monovalentes como las de potasio o divalentes como las de calcio y magnesio.

El uso de mezclas de sales con bajo contenido en sodio implica cambios importantes en las etapas del proceso de curación del jamón (salado, postsalado y secado-maduración), debidos principalmente al diferente grado de penetración y de difusión de los cationes en el músculo y al retraso del proceso de disminución de la actividad del agua durante el postsalado, imprescindible para la siguiente etapa de secado y maduración.

❖ Tecnología de Infrarrojo Cercano NIR

La verificación de un proceso productivo y en consecuencia la aceptación, reprocesado o rechazo del producto final, dependen generalmente de los resultados obtenidos en las pruebas realizadas en el laboratorio, por lo tanto, primará la fiabilidad y rapidez de los métodos analíticos empleados, así como su coste.

El control de los parámetros que habitualmente se llevan a cabo durante el proceso de curación del jamón y sobre producto final, se realiza a través de métodos analíticos destructivos que conllevan tres importantes consecuencias:

- A. Es necesario realizar un muestreo, cuyos datos pueden ser o no representativos del contenido real de cada parámetro en los lotes de jamones, debido a la alta heterogeneidad de los mismos.
- B. La pérdida de producto debido a la destrucción de las muestras supone un gasto económico para el fabricante. Estas pérdidas son incluso mayores en el caso del jamón curado, a causa de su coste de producción, tanto el relacionado con las materias primas como el de un largo proceso de producción bajo condiciones controladas.
- C. El tiempo de respuesta no es inmediato y dificulta tomar decisiones durante el proceso de elaboración.

Las pruebas de calidad de los productos alimenticios son fundamentales a la hora de garantizar unos estándares nutricionales y tecnológicos, especialmente en productos como el jamón curado, que si ya como materia prima es un producto con elevado coste económico, hay que añadirle el coste del proceso de curado. Las empresas del sector agroalimentario necesitan avalar la calidad y la seguridad, garantizando los medios de control en fábrica, bien para asegurar el cumplimiento

con la normativa aplicable o para ofrecer un producto que cumpla con los requisitos de posteriores manipuladores o distribuidores.

La sal representa uno de los parámetros críticos en un producto final tan heterogéneo y con un alto valor añadido como es el jamón curado y su control

El conocimiento de la ingesta de sodio es una de las formas más sencillas, eficaces y coste-efectivas de reducir la prevalencia actual de las enfermedades cardiovasculares y debe ser una prioridad para las autoridades de salud pública (AESAN, 2010).

constituiría una mejora tangible tanto para la industria, mediante la clasificación cualificada de las piezas en función de su contenido en sodio, como para el cliente, al que se le proporciona información precisa y veraz sobre el alimento que está

adquiriendo, teniendo en cuenta la relevancia que el sodio tiene en su dieta.

El control de los parámetros relacionados con el contenido en sodio del jamón es esencial, pero no es sencillo. El jamón de cerdo no es una materia prima homogénea, existe una alta variabilidad entre las diferentes razas e incluso entre individuos de la misma raza y procedencia. Debido a esto, la penetración de sal en el jamón depende de la variabilidad de la materia prima, por lo tanto, se hace muy difícil un control rápido de este parámetro en los productos elaborados por la industria.

Actualmente no existe ningún sistema de clasificación de jamones en función del contenido de sodio al final del proceso, ni de la determinación de este parámetro en la línea de envasado de producto loncheado, debido a que no se dispone del sistema de medida adecuado que proporcione el valor de sodio de manera on-line y manteniendo la pieza o producto intacto.

- *Fundamento teórico de la Espectroscopia de Infrarrojo Cercano (NIRS)*

La **Espectroscopia de Infrarrojo Cercano (NIRS)** es uno de los principales avances en tecnologías relacionadas con la industria agroalimentaria, aunque su campo de aplicación engloba otros sectores, tan diversos como el farmacéutico o petroquímico. Aunque de momento no ha sido reconocido como método oficial, su fiabilidad y precisión hace que las empresas confíen cada vez más en sus resultados, sirviendo como sistema de información de la calidad de los productos y materias primas en tiempo real.

El análisis de infrarrojo cercano es una técnica incluida en el campo de la espectroscopia molecular, la cual estudia la interacción de la radiación electromagnética con la materia.

La región del infrarrojo comprende el intervalo espectral entre 750 y 10^6 nm (Figura 4). Según el fenómeno espectroscópico que provoca la absorción de energía por parte de la materia, esta región se puede dividir en tres zonas: infrarrojo cercano (NIR) 750-2.500 nm; medio (MIR) 2500-4.10⁴ nm; lejano (FIR) 4.10⁴-10⁶ nm.

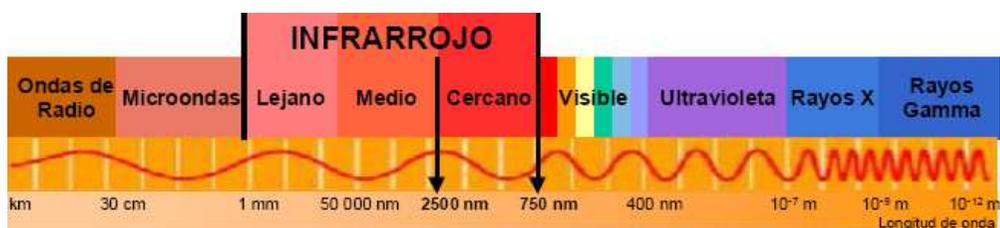


Figura 4. Regiones espectrales

El NIR se corresponde con los sobretonos y combinaciones de las bandas originadas por las vibraciones fundamentales en la región del infrarrojo medio. Es una porción del espectro en la cual las muestras presentan baja absorción comparado con otras regiones del infrarrojo. La baja absorción permite que la

radiación infrarroja penetre en muestras sin preparación, modificación o dilución. La radiación incidente provoca la vibración de los enlaces covalentes de átomos ligeros en las uniones carbono-hidrógeno, oxígeno-hidrógeno y nitrógeno-hidrógeno. Esto provoca la aparición de una banda en el espectro NIR, de forma que no sólo se detectan las uniones, sino también las interacciones moleculares entre diferentes sustancias.

Existen distintas formas de análisis en la espectroscopia de infrarrojo cercano según la presentación de la muestra y la colocación del detector: transmitancia, reflectancia, transflectancia e interactancia-reflectancia (Figura 5). Cada una de ellas se rige por unas leyes físicas diferentes.

En el caso de la transmisión o espectroscopia de *transmitancia*, está indicada para líquidos que dejen pasar el haz de luz antes de que esa señal sea detectada. En cuanto a muestras sólidas el modo de medida adecuado es la reflexión, más conocida como espectroscopia de *reflectancia*, estudia la radiación reflejada por la muestra que puede ser especular o difusa, y aunque en condiciones normales las medidas contienen las dos componentes de la reflexión, la componente difusa es la que aporta información acerca de la composición de la muestra, por lo que es la base de las medidas en la región del infrarrojo cercano. La luz penetra perpendicularmente unos milímetros en la muestra y es posteriormente reflejada y recogida por un detector ubicado a 45° del rayo de luz incidente y en el mismo lado que la fuente emisora, en este caso, el paso óptico es indeterminado. Para el caso de muestras líquidas semitransparentes o semisólidas el método a elegir será la *transflectancia*, que combina los dos modos anteriores, de forma que la luz atraviesa la muestra hasta llegar a un reflector, que reflejará la luz y así volverá a atravesarla antes de ser recibida por el detector.

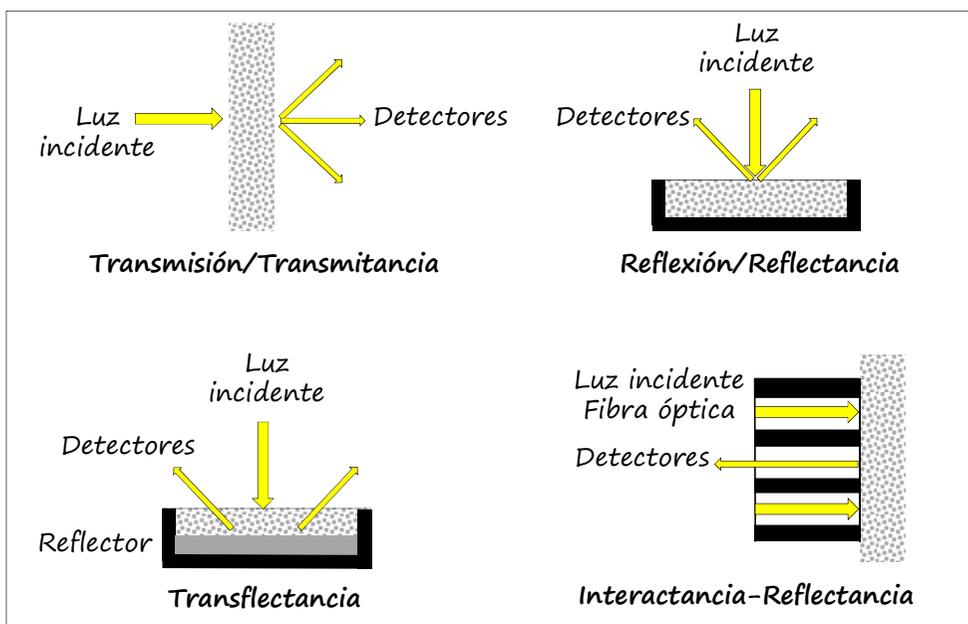


Figura 5. Modos de análisis NIR (adaptado de Kawano, 2002)

Por último, la modalidad de *interactancia-reflectancia* hace referencia al uso de una sonda de fibra óptica constituida por anillos concéntricos, siendo el exterior de los mismos por el que se ilumina la muestra y el interior por el que se devuelve la energía reflejada de la muestra. Con este tipo de análisis, se elimina el proceso de llenado de cápsulas o cubetas de medición, recogiendo el espectro directamente sobre la muestra y transmitiéndolo al instrumento mediante las fibras ópticas (Kawano, 2002).

En esta tesis doctoral se emplearán tres tipos de espectroscopia: *interactancia-reflectancia* para la *determinación de sodio en pieza entera y producto loncheado de jamón curado* y *reflectancia* y *transmitancia* para la *determinación de los parámetros implicados en el proceso de curación del jamón*.

La tecnología NIRS, tal y como es entendida en la actualidad, es una síntesis de espectroscopia, matemática estadística e instrumentación. El desarrollo de esta

tecnología para el análisis está, por tanto, directamente relacionada con la quimiometría, es decir, con el desarrollo de procedimientos de modelos de estimación mediante tratamiento de análisis de datos multivariantes. Al ser una técnica secundaria, requiere la obtención de una calibración para cada componente basándose en resultados provenientes tanto de los datos espectroscópicos como de los obtenidos por métodos de referencia (Figura 6). La información que se obtiene son unos espectros que deben ser interpretados puesto que corresponden a la absorción de energía de los diferentes enlaces. El tratamiento de los espectros se realiza a través de un análisis quimiométrico que permite realizar la transformación de los datos y los análisis de regresión de la información contenida en estos complejos espectros. Una vez obtenida la calibración se valida el modelo y puede ser utilizado para su uso en rutina.

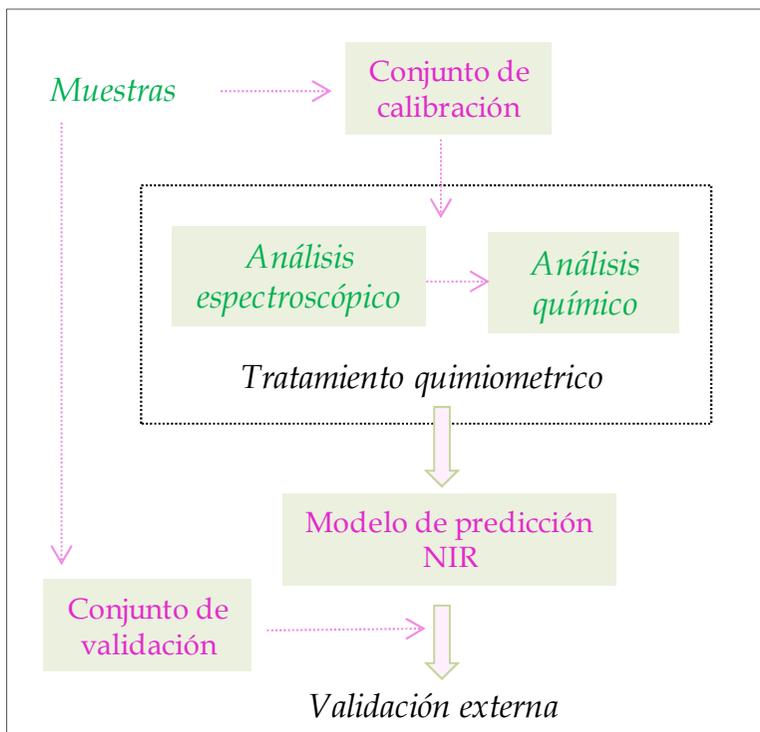


Figura 6. Esquema de trabajo para el desarrollo de modelos de predicción NIR

Ventajas e inconvenientes de la tecnología NIRS

Como ventajas de la espectroscopia NIR se pueden citar las siguientes:

- ✓ Se trata de una técnica analítica que no es destructiva ni invasiva.
- ✓ La preparación de la muestra es sencilla y la medida se realiza con rapidez.
- ✓ Proporciona resultados cuantitativos de las muestras. Se puede correlacionar con un control más preciso del producto final.
- ✓ Permite la determinación de varios parámetros de la muestra simultáneamente.
- ✓ Una vez realizadas las calibraciones el manejo del equipo es sencillo.
- ✓ El coste de análisis por muestra es bajo debido en gran parte a la ausencia de tratamiento de muestra, a la velocidad de medida y a la facilidad de su uso en rutina.

Las desventajas de esta tecnología son:

- ✓ El coste de un equipo NIR es alto, su puesta a punto (calibración) es muy laboriosa y requiere, inicialmente, una dedicación alta de tiempo.
- ✓ Es una técnica secundaria que requiere de una analítica de laboratorio precisa y exacta para la calibración del equipo NIR.
- ✓ La señal obtenida es tan compleja que las bandas del espectro son de difícil interpretación, por lo que se hace necesario el uso de la quimiometría junto con diferentes pretratamientos espectrales.
- ✓ Al ser una técnica secundaria, el error de análisis obtenido con el NIR es mayor que con un método primario.

El análisis mediante espectroscopia NIR para sodio no es directo. Como se ha mencionado anteriormente, se recogen medidas relacionadas con los enlaces covalentes de ciertos elementos, entre los que no se encuentra el sodio. Sin embargo, se puede determinar mediante esta técnica debido a las interacciones entre los enlaces covalentes de las diferentes moléculas que se encuentran en el alimento.

Uno de los aspectos que resultan imprescindibles a la hora de plantear la aplicación industrial de modelos NIR para la determinación de sodio, es el tiempo necesario para tomar la medida con el sistema NIR que se decida instalar en la línea de producción, para que aporte la información suficiente para garantizar la correcta realización de las calibraciones con la mejor precisión posible. Además, con este sistema de medida se evitan las preparaciones de muestra por métodos convencionales que resultan caras y requieren un mayor tiempo de análisis. De esta forma, se eliminan los errores de muestreo y las pérdidas de las muestras analizadas, además de poder garantizar el control de la producción de una manera sencilla.

Una vez realizadas las calibraciones del equipo NIR, para llevar a cabo su implantación en la línea de procesado de jamón curado, se hace necesaria la validación de los modelos, donde se valora la influencia de las condiciones ambientales de la línea de producción sobre la medición de las muestras y se instaura el modelo de calibración para su uso en las mediciones en rutina.

El uso de la Espectroscopia de Infrarrojo Cercano para el control del parámetro sodio sobre la línea de procesado de jamón curado supone una serie de mejoras que resultan muy positivas tanto para la empresa, al tener un control real sobre las características tecnológicas de su producción sin ralentizar ni disminuir el volumen y velocidad de producción, como para el consumidor que puede

disponer del contenido en sodio del producto que está adquiriendo, de tal modo que le ayuda en la elección, acorde a sus gustos y preferencias (con mayor o menor contenido en sal).

- *Instrumentación*

El esquema básico de un instrumento NIR no difiere de cualquier otro espectrofotómetro. Sin embargo, debido a la baja intensidad de las bandas NIR, el nivel de exigencia en términos de ruido y estabilidad instrumental es mayor que en otros espectrofotómetros.

Los **componentes básicos de un instrumento NIRS** son: una fuente de energía radiante, láser He-Ne, un monocromador para la discriminación de longitudes de onda, un compartimento para la muestra y uno o varios detectores, PbS; InGaAs; Si-Diodo, que convierten la energía radiante en señal eléctrica. Con la ayuda de un amplificador de alta tensión y bajo ruido, la señal procedente de los detectores es amplificada. Posteriormente, esta señal es convertida en digital mediante un convertidor analógico-digital, y por último la señal digital es transmitida a un ordenador para su procesado (Shenk & Westerhaus, 1995; Bertrand, 2000) (Figura 7).

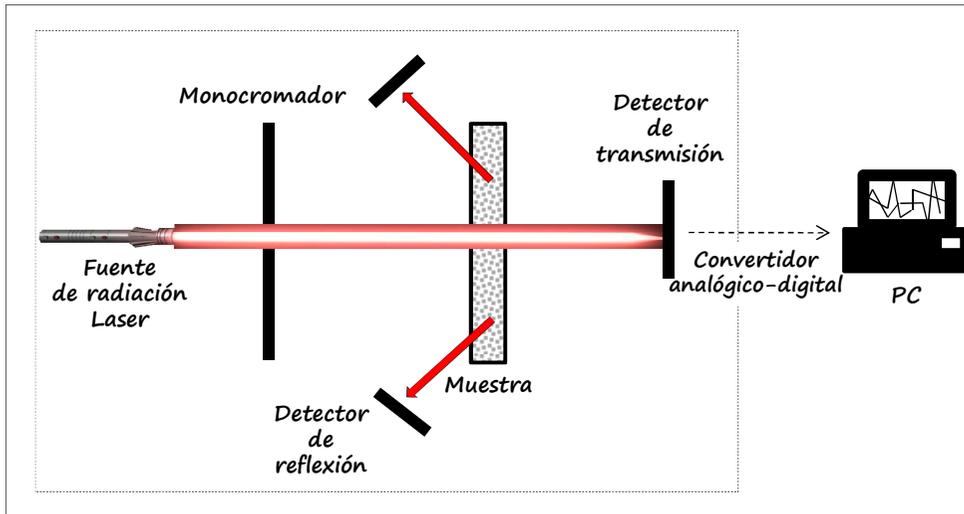


Figura 7. Componentes básicos de un instrumento NIRS

En el mercado existen *equipos dispersivos* que trabajan con todo el rango NIR, ya que utilizan un sistema monocromador de difracción móvil (*grating*) detectando cada longitud de onda independientemente en el tiempo; *equipos de filtros* que sólo trabajan con determinadas longitudes de onda; *equipos de red de diodos* que pueden trabajar con todo el rango espectral detectando todas las longitudes de onda a la vez, ya que tienen un detector para cada una; *equipos FT-NIR (Transformada de Fourier)* que pueden trabajar con todas las longitudes de ondas simultáneamente. A este tipo pertenecen los dos equipos empleados en esta tesis doctoral: Espectrómetro NIR con transformada de Fourier modelo Matrix-F de Emisión [Figura 8 (a)] y modelo MPA (Multi Purpose Analyzer) [Figura 8 (b)], ambos de la casa comercial Bruker Optics.

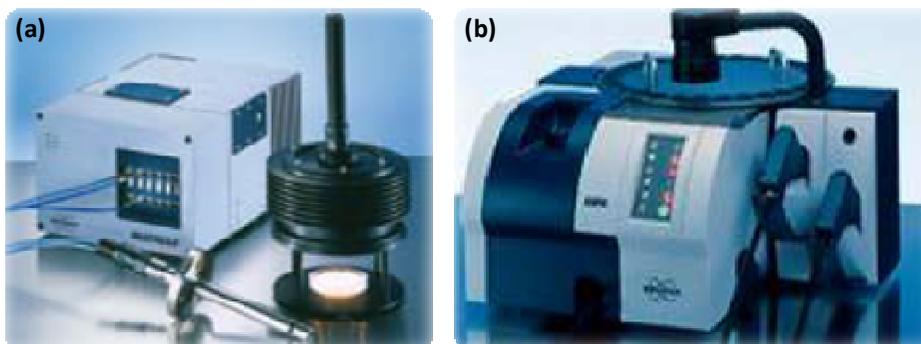


Figura 8. Equipos NIR (a) Matrix-F (b) MPA

La gran variabilidad existente por tanto en materia de instrumentación NIRS permite en la actualidad desarrollar **diferentes modalidades de análisis para el control de procesos**. En términos generales, Callis *et al.*, (1987) establecieron una clasificación para distinguir entre las diferentes metodologías existentes, *off-line*, *at-line*, *in-line* y *on-line* (Figura 9). De forma descriptiva, realizar un análisis *off-line* consiste en un muestreo manual con un posterior análisis en el laboratorio; un análisis *at-line* consiste en la realización de un muestreo manual, pero realizando el análisis sin salir de la zona de producción; un método *in-line* es aquel que realiza un muestreo automático enviando la muestra a la zona de análisis que se dispone en una zona anexa a la línea de producción para después enviar de nuevo la muestra a la cadena productiva; y una técnica analítica *on-line* es aquella que se realiza dentro de la línea de producción introduciendo una fibra óptica con o sin contacto con la muestra, esta última se denomina técnica analítica *on-line no invasiva*. Las dos últimas se consideran, así mismo, medidas *in situ*.

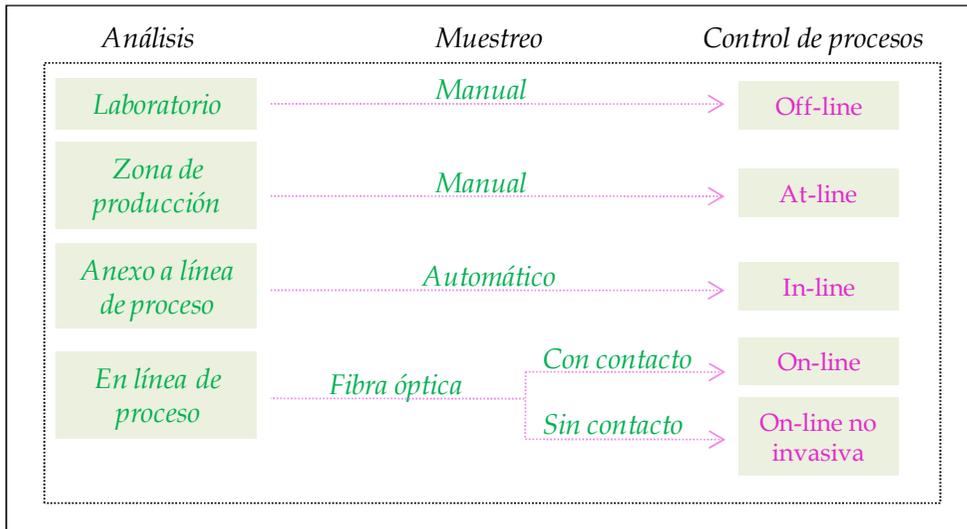


Figura 9. Modalidades de medición en función de la disposición de los equipos NIRS para el control de procesos

Los modelos desarrollados para la determinación de sodio sobre pieza entera y loncheados de jamón curado se ha empleado la tecnología NIRS siguiendo la metodología on-line no invasiva. Para el desarrollo de las calibraciones de los parámetros implicados en el proceso de curación del jamón con contenido reducido en sodio, se sigue la metodología off-line.

- *Análisis quimiométrico de datos espectroscópicos NIR*

Como los espectros NIR son el resultado de los sobretonos y combinaciones de las absorciones fundamentales de la región del infrarrojo medio, las bandas NIR son anchas y se superponen y, por lo tanto, no son selectivas. La estrategia clásica de calibración para el desarrollo de aplicaciones cuantitativas NIR se basa en la obtención de calibraciones utilizando métodos multivariantes para obtener el ajuste lineal de la información disponible. Según Shenk et al. (2001) una calibración completa es aquella que puede ser usada para predecir entre el

90-95 % de las muestras de un producto dado. Por lo tanto, el primer paso en el proceso de calibración es definir el rango de la muestra que debe ser cubierto por la calibración.

Las muestras a las que se va a aplicar el modelo desarrollado han de estar bien representadas en el conjunto de calibración. Dentro de este grupo se deben incluir muestras que abarquen el rango del parámetro objeto del estudio. Así el modelo de predicción construido se puede aplicar al mayor número posible de muestras (Shenk & Westerhaus, 1991a), siempre que la matriz sea la misma que la utilizada en la construcción del modelo. Al manipular datos espectroscópicos NIR tradicionalmente se asume el cumplimiento de la *ley de Lambert-Beer* (Hruschka, 2001). Como es conocido, esta ley establece que los valores de absorción se relacionan linealmente con la concentración de cada muestra y en consecuencia la mayoría de las técnicas matemáticas aplicadas para el desarrollo de calibraciones se basan en métodos de ajustes lineales, principalmente regresión lineal múltiple (MLR), regresión por componentes principales (PCR) y, sobre todo, regresión por mínimos cuadrados parciales (PLSR).

PCR y PLSR son métodos de calibración que trabajan con todo el espectro, aunque se sintetizan en una serie de variables linealmente independientes con el fin de evitar la colinealidad de datos. La ventaja principal es que eliminan la necesidad de seleccionar longitudes de onda para el desarrollo del modelo; sin embargo, su uso puede dificultar la interpretación química. PCR utiliza sólo los datos espectrales para calcular las nuevas variables ortogonales denominadas componentes principales, que luego se utilizan para el ajuste de regresión múltiple. PLSR es un procedimiento similar que asume que la información espectral es una función de un pequeño número de variables linealmente independientes. Sin embargo, el cálculo de las variables no sólo se basa en los

datos espectrales, sino también en los valores de referencia del parámetro medido para cada muestra.

El **modelo de regresión PLS** es el método más utilizado en las aplicaciones NIR de la industria agroalimentaria, siendo un método de calibración multivariante muy apropiado para correlacionar los espectros NIR con el componente de interés. El software incluido en el equipo NIR empleado en este trabajo (OPUSTM), utiliza este método para llevar a cabo el desarrollo de las ecuaciones de calibración. Cuando se trabaja con métodos de regresión como éstos, es fundamental establecer un número óptimo de factores o términos para el ajuste del modelo. Para ello se aplica el método de validación cruzada, que a su vez evita el sobreajuste u overfitting (Fernández-Cabanás et al., 2011). En **validación cruzada**, un grupo de muestras se saca del conjunto de calibración y se utiliza para validar el modelo desarrollado con el grupo de muestras restante. Este proceso se repite sucesivamente hasta que todas las muestras han sido analizadas.

La capacidad de predicción de los métodos NIR desarrollados para cada parámetro se evalúa a partir del error obtenido en validación cruzada (RMSECV, Root Mean Square Error of Cross Validation) que es una medida cuantitativa de la precisión del modelo desarrollado y del coeficiente de determinación (R^2_{CV}), determinado a partir de los valores de referencia (valor real) frente a los valores predichos por los modelos NIR (valor predicho). Otro parámetro empleado en la evaluación del modelo es la desviación residual de predicción (RPD, Residual Predictive Validation) (Williams & Sobering, 1996), que se define como la relación entre la desviación estándar de los datos obtenidos mediante el análisis de referencia (SD de referencia) y el error estándar de predicción de validación cruzada de los mismos (SECV). Este valor idealmente debe ser superior a 2,5-3,0, si bien en los casos en los que la desviación estándar (SD) es menor de la unidad

puede no llegarse a ese valor ideal. Esto ocurre cuando el conjunto de muestras no se encuentran distribuidas homogéneamente en todo el rango de calibración, es decir que nos encontramos con el caso de un gran número de muestras en el centro, pero solo unas pocas en los extremos del rango.

Shenk y Westerhaus (1991) sostienen que RMSECV es el mejor estimador de la capacidad predictiva de una ecuación, y es equivalente al error estándar promedio o varianza de la predicción (RMSEP) de grupos de muestras ajenos a la calibración seleccionados al azar. Las mejores calibraciones se seleccionan en base a los valores más altos de R^2_{cv} y RPD y de menor RMSECV.

Calibración y validación interna

Para la optimización del proceso de calibración se llevan a cabo los siguientes pasos:

1. Análisis de componentes principales (PCA). Es una técnica estadística de síntesis de información o de reducción de la dimensión (número de variables). Los nuevos componentes principales o factores serán una combinación lineal de las variables originales, y además serán independientes entre sí. En este estudio se manejan únicamente los espectros sin tener en cuenta los datos de los análisis de referencia. Mediante los gráficos de puntuación (Score Plot), donde se muestran todos los espectros en el espacio de las componentes principales, podemos estudiar cuáles no pertenecen o se desvían del conjunto de calibración y descartar las muestras redundantes, que son aquellas que presentan una alta colinealidad (elevada correlación lineal entre espectros).

2. Detección y eliminación de valores atípicos (outliers). Por definición, un outlier es una observación que es numéricamente distante del resto de los datos. Las estadísticas derivadas de los conjuntos de datos que incluyen valores atípicos serán frecuentemente engañosas. Para su detección se emplean, la *Distancia de Mahalanobis*, que indica cómo de diferente es el espectro de la muestra del espectro promedio de la población y, el residuo espectral, que es la diferencia entre el espectro medido y el que se espera teóricamente a partir del análisis de los factores del modelo de calibración. Los outliers son fácilmente reconocibles por un crecimiento en la distancia de Mahalanobis o en el residuo espectral. Además, el riesgo de que se produzcan errores en las ecuaciones en condiciones prácticas es muy bajo o casi nulo cuando se utilizan estas variables durante el análisis rutinario de muestras desconocidas (González-Martín, 2011).
3. Aplicación de pre-procesamientos matemáticos. Para ello se emplean tratamientos de corrección de dispersión y derivaciones del espectro original común para transformar los datos espectrales, de tal manera que las señales puedan ajustarse mejor a la ley de Beer (Rinnan et al., 2009). Los pre-procesamientos utilizados son: normalización vectorial (SNV), normalización mínimo-máximo (Nmín-máx), corrección multiplicativa de dispersión (CDM), sustracción de línea recta (SLR), eliminación de desviación constante (EDC), primera y segunda derivada (1ª d. y 2ª d.) o combinaciones de algunas de estas opciones.

El método PLS se lleva a cabo estableciendo un límite máximo de 25 factores (Rank \leq 25), aunque el número óptimo de factores en cada ecuación se determina

como el número de factores sobre los que el error de la validación cruzada (RMSECV) no disminuya sustancialmente. Se seleccionan los mejores modelos para cada parámetro en base al valor más bajo de RMSECV y se eligen de entre ellos, el mejor modelo por parámetro que presenta el menor número de factores PLS.

$$RMSECV = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i^{real} - y_i^{pred})^2}$$

Donde y_i^{pred} se refiere a la concentración de la muestra predicha por el modelo, y_i^{real} el valor de la concentración medida por el método de referencia de la muestra i , y n es el número de muestras del conjunto de calibración.

Validación externa

Finalmente, para comprobar la robustez de los modelos de calibración desarrollados y determinar la capacidad real de predicción de dichos modelos, se lleva a cabo un proceso de validación externa, aplicando las ecuaciones a un conjunto de muestras que no pertenecen al grupo de calibración y que presentan un rango de concentración dentro de la aplicabilidad de las ecuaciones obtenidas. Es imprescindible emplear un conjunto de datos independientes porque sólo de esta manera se puede evaluar la exactitud en la predicción real.

El conjunto de muestras de validación representa el 10 % del total de las muestras. El software del equipo selecciona automáticamente este conjunto, empleando la distribución de los espectros dentro del análisis PCA y por tanto, seleccionando muestras variadas que representen a todo el conjunto. El error estándar de predicción (RMSEP, Root Mean Square Error of Prediction), que representa una evaluación objetiva del error global entre los valores de referencia

y los obtenidos a partir del modelo, se utiliza para evaluar y comparar la precisión de los diferentes modelos desarrollados. RMSEP se calcula de la misma forma que su homólogo en la validación interna (RMSECV), pero utilizando los valores del conjunto de validación.

Al igual que en la validación interna, se utiliza RPD como parámetro adicional para evaluar la capacidad predictiva de los modelos, que representa una medida cualitativa de la evaluación de los resultados de la validación. En este caso para el cálculo de RPD se emplea la relación entre la desviación estándar (SD) de los valores de referencia y el error estándar de predicción (SEP), que es comparable a SECV, pero se calcula con las muestras del set de validación. Cuanto menor sea el error de predicción, en comparación con la varianza de los valores de referencia, mayor es el valor de RPD y por lo tanto, mejor es el modelo. Varios autores consideran que un modelo es adecuado desde el punto de vista analítico cuando la capacidad predictiva RPD es superior a 2,5 (Sinnaeve et al., 1994; Conzen, 2006).

❖ REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición), Disponible en: http://www.aesan.msc.es/AESAN/web/notas_prensa/reduccion_sal.shtml.

Allis, J. B., Illman, D. L., & Kowalski, B. R. (1987). Process analytical chemistry. *Analytical Chemistry*, 59(9), 624A-637A.

ANICE (Asociación Nacional de Industrias de la carne de España). El Sector Cárnico. Recuperado de http://www.anice.es/v_portal/informacion/informacion_ver.asp?cod=9776&te=7&idage=11909&vap=0&npag=1

Arnau, J., Guerrero, L., & Sárraga, C. (1998). The effect of green ham pH and NaCl concentration on cathepsin activities and the sensory characteristics of dry-cured hams. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(3), 387-392.

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 (1), 63-69.

Bello, J. (2008). Jamón curado. Aspectos científicos y tecnológicos. Perspectivas desde la Unión Europea. Díaz de Santos, Madrid.

Bertrand, D. (2000). Prétraitement des données spectrales. La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques,, 351-370.

Collell, C. (2012). Espectroscòpia NIR per a la determinació on-line de l'aw i del contingut d'aigua i sal durant l'assecat de productes crus-curats (Tesi doctoral). Universitat de Girona.

Conzen, J. P. (2006). Multivariate calibration, a practical guide for developing methods in the quantitative analytical chemistry. *Ettlingen, Germany: BrukerOptik GmbH*.

E.T.G. "Jamón Serrano". Recuperado de http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/calidad-agroalimentaria/calidad-diferenciada/especialidades-tradicionales-garantizadas/jamon_serrano.aspx

Fernández-Cabanás, V. M., Polvillo, O., Rodríguez-Acuña, R., Botella, B., & Horcada, A. (2011). Rapid determination of the fatty acid profile in pork dry-cured sausages by NIR spectroscopy. *Food Chemistry*, 124(1), 373-378.

FUENTE NIELSEN. <http://www.nielsen.com/es>

FUNDACIÓN DEL J AMÓN SERRANO. http://www.fundacionserrano.org/jamon-serrano-informacion-al-consumidor-vida-sana/dossier-de-la-fundacion/la-fundacion-del-jamon-serrano_127_68_134_0_1_in.html

Girard, J. P., Bout, J., & Salort, D. (1988). Lipides et qualités des tissus adipeux et musculaires de porc; facteurs de variation. Journées de la recherche porcine en France, 20, 255-278.

Girón, I. J. (2014). Uso de sensores electrónicos para la optimización y control del proceso de elaboración del jamón curado (Tesis doctoral). Universidad Politécnica de Valencia.

González, V. (2012). Determinación no destructiva de parámetros de calidad en uvas, racimos y mostos mediante Espectroscopia de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano (Tesis doctoral). E.T.S. de Ingeniería Agronómica y de Montes. Universidad de Córdoba.

González-Martín, I., Hernández-Hierro, J. M., Revilla, I., Vivar-Quintana, A., & Ortega, I. L. (2011). The mineral composition (Ca, P, Mg, K, Na) in cheeses (cow's, ewe's and goat's) with different ripening times using near infrared spectroscopy with a fibre-optic probe. *Food Chemistry*, 127(1), 147-152.

Hersleth, M., Lengard, V., Verbeke, W., Guerrero, L. & Næs, T. (2011). Consumers' acceptance of innovations in dry-cured ham: Impact of reduced salt content, prolonged aging time and new origin. *Food Quality and Preference*, 22(1), 31–41.

Hruschka, W. R., Williams, P., & Norris, K. (2001). *Near-infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*, American Association of Cereal Chemists. Inc., St. Paul, Minnesota, USA, 39-58.

Jordana J. (2000). Traditional foods: challenges facing the European food industry. *Food Research international*, 33 (3-4), 147-152.

Kawano, S. (2002). Sampling and sample presentation. *Near-Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications*, 115-124.

Leistner, L. (1985). Hurdle technology applied to meat products of the shelf stable product and intermediate moisture food types. In *Properties of water in foods* (pp. 309-329). Springer Netherlands.

Lorés, A., & Rabinal, P. R. (2012). Desarrollo del color y el flavor en jamones curados con y sin nitrificantes. Implicaciones en la seguridad alimentaria. *Eurocarne: La revista internacional del sector cárnico*, (206), 44-49.

Moncada, G. V. H. W (2006). *Espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) en el análisis cuantitativo y cualitativo de carne de cordero* (Tesis doctoral). Universidad Austral de Chile.

Rinnan, Å., van den Berg, F., & Engelsen, S. B. (2009). Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28(10), 1201-1222.

Salguero, L. (2013). *Aplicaciones de la tecnología NIRS para la determinación on-line de parámetros de control y calidad alimentarias en aceitunas intactas*. Universidad de Córdoba.

Sárraga, C., Gil, M., & García-Regueiro, J. A. (1993). Comparison of calpain and cathepsin (B, L and D) activities during dry-cured ham processing from heavy and light large white pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62(1), 71-75.

Shenk, J. S., & Westerhaus, M. O. (1991a). Population definition, sample selection, and calibration procedures for near infrared reflectance spectroscopy. *Crop science*, 31(2), 469-474.

Shenk, J. S., & Westerhaus, M. O. (1991b). Populations structuring of near infrared spectra and modified partial least squares regression. *Crop Science*, 31(6), 1548-1555.

Shenk, J. S., & Westerhaus, M. O. (1996). Calibration the ISI way. *Near infrared spectroscopy: The future waves*, 198-202.

Shenk, J. S., Workman, J. J., & Westerhaus, M. O. (2001). Application of NIR spectroscopy to agricultural products. *Practical Spectroscopy Series*, 27, 419-474.

Shenk, J.S. & Westerhaus, M.O. (1995) *Analysis of Agriculture and Food Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy*. NIR Systems, Monograph.

Sinnaeve, G., Dardenne, P., Agneessens, R., & Biston, R. (1994). The use of near infrared spectroscopy for the analysis of fresh grass silage. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2, 79–84.

Trichopoulou, A., Soukara, S., & Vasilopoulou, E. (2007). Traditional foods: a science and society perspective. *Trends in Food Science & Technology*, 18(8), 420-427.

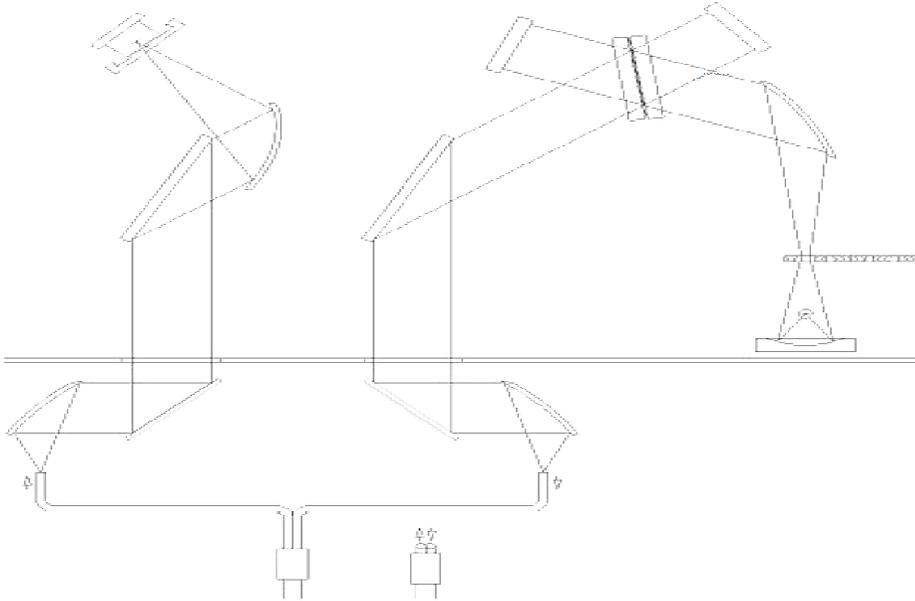
Ventanas, J. (2012). *Jamón Ibérico y Serrano. Fundamentos de la elaboración y de la calidad*. Editorial Paraninfo.

Ventanas, J., & Andrés, A. I. (2001). *Tecnología del jamón ibérico*.

Williams, P. C., & Sobering, D. C. (1996). How do we do it: a brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. Near infrared spectroscopy: The future waves, 185-188.

Wirth, F. (1984). Influence of processing on the quality of meat products. Landwirtschaftliche Forschung (Germany, FR).

OBJETIVOS



OBJETIVOS

❖ Objetivos generales

Los **OBJETIVOS GENERALES** de esta tesis doctoral son:

- Desarrollar un **sistema de medida on-line mediante tecnología NIRS** que permita clasificar las piezas de jamón curado según su contenido en sodio y a su vez, predecir este parámetro en cada producto loncheado.
- Aplicar la **tecnología NIRS** en el **seguimiento del proceso de elaboración de jamón curado con contenido reducido en sodio.**

En el desarrollo de la tesis doctoral, se evidencia la **viabilidad de la tecnología NIRS** para la **determinación de sodio en producto final**, y de los principales **parámetros implicados en el proceso de curación del jamón con contenido reducido en sodio.**

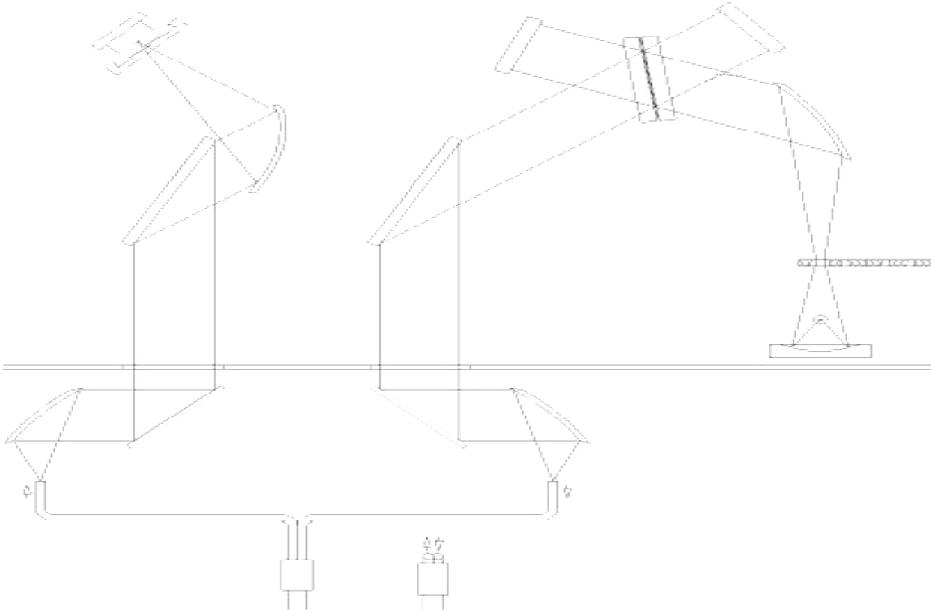
La optimización de los procesos que permitan obtener un control en la calidad y seguridad de los productos finales, incluidos los productos fraccionados como son los deshuesados y loncheados, y por otro lado, el reducir y conseguir el punto óptimo de sal en el jamón curado, un producto cuyo flavor típico y estabilidad depende de que haya la correcta cantidad de sal, representan un avance e innovación científico-técnica que es clave en este sector de alimentos tradicionales.

❖ **Objetivos específicos**

Los **OBJETIVOS ESPECÍFICOS Y TECNOLÓGICOS** de este trabajo de investigación son los siguientes:

- ✓ Desarrollar un modelo de predicción mediante la tecnología NIRS para la determinación on-line del contenido de sodio en jamón curado loncheado.
- ✓ Desarrollar modelos de compensación de temperatura para minimizar su influencia en la predicción del parámetro sodio en producto loncheado.
- ✓ Estudiar el contenido de sal sobre la pieza entera de las diferentes partes del jamón curado para seleccionar la zona más adecuada para la medida NIR.
- ✓ Construir un modelo de predicción NIR para la determinación on-line del contenido de sodio en pieza entera de jamón curado para su clasificación.
- ✓ Caracterizar, desde el punto de vista fisicoquímico, microbiológico y sensorial, los jamones curados elaborados con reducción de sodio producidos por la empresa colaboradora. Análisis estadístico de los resultados.
- ✓ Estudiar el efecto de la difusión de las diferentes sales empleadas en el proceso para la reducción del contenido de sodio en jamón curado.
- ✓ Evaluar los parámetros implicados en el proceso de curación de jamón con reducido contenido en sodio mediante la Tecnología NIRS.
- ✓ Demostrar la fiabilidad de los métodos desarrollados para la predicción de sodio en muestras de jamón curado loncheado a través de la comparativa entre lonchas con diferente contenido en sodio.

PLAN DE TRABAJO



PLAN DE TRABAJO

Para lograr los objetivos propuestos se desarrolla el plan de trabajo expuesto a continuación y que se presenta en cuatro capítulos.

Capítulo 1. Aplicación de la tecnología NIRS para ampliar la información nutricional del producto jamón curado loncheado en función de su contenido en sodio.

Este capítulo consta de dos apartados. El primero corresponde al desarrollo de modelos de predicción para la determinación del contenido en sodio y humedad de jamón curado loncheado. El desarrollo de la calibración se lleva a cabo en un laboratorio externo, simulando las mismas condiciones que la línea de envasado. Se lleva a cabo un estudio previo tanto de las características y adaptación de la línea (velocidad de la línea, temperatura de la sala, posición del equipo de medida) como del producto (temperatura a la que llega la loncha al punto de medida espectral, colocación de las bandejas).

La implantación en la línea vendrá definida por el tiempo de toma espectral, que no solo definirá la velocidad de la línea, sino del número y disposición de las sondas de medida. Las sondas no miden simultáneamente, con lo que la disposición de éstas ha de ser de forma que se puedan medir cada una de las bandejas en el menor tiempo posible sin retrasar el proceso de producción.

En el segundo apartado se tiene en cuenta la influencia de la temperatura en el desarrollo del modelo de predicción para la determinación de sodio, debida a posibles variaciones de la misma durante el proceso de medida. Se desarrollan dos tipos de modelos con compensación de la temperatura: local y global.

Resultados obtenidos:

- ✓ Calibración del parámetro sal (sodio) en lonchas de jamón curado.
- ✓ Aporte del parámetro sodio a la información nutricional de cada producto envasado.
- ✓ Modelos de predicción NIR con compensación de temperatura.

Capítulo 2. Desarrollo de un sistema de medida on-line para catalogar las piezas de jamón curado en función de su contenido en sodio.

Se desarrollan calibraciones para la determinación de sodio sobre piezas enteras de jamón curado con el objetivo de clasificarlas en la propia línea de deshuesado en función del contenido de este parámetro. En primer lugar, se lleva a cabo un estudio para determinar el momento más adecuado de la toma espectral durante el proceso de deshuesado. Desde el punto de vista analítico, se hace un estudio exhaustivo para determinar la zona sobre la que se va a desarrollar la calibración, dicha zona debe ser accesible para la medida y ser repetitiva en cuanto al contenido de sodio en jamones de la misma procedencia. Al mismo tiempo debe aportar una información extrapolable al contenido en sal de toda la pieza, o bien permitirnos hacer una relación lo más directa posible con las diferentes partes del jamón (maza, codillo, punta y babilla).

En segundo lugar, se desarrollan calibraciones en las que se tiene en cuenta la cantidad de toma de muestra para la determinación de sodio mediante el método de referencia.

Los resultados de este trabajo son extrapolables a la predicción de sodio en la pieza entera antes de ser deshuesada. De este modo, se puede conocer el contenido de sal en la línea de producción de la pata de jamón curado sin destruir la pieza.

Resultados obtenidos:

- ✓ Selección de la mejor zona de medida en la pieza entera de jamón.
- ✓ Calibración del parámetro sodio con el equipo NIR on-line para piezas enteras de jamón curado.

Capítulo 3. Evaluación del seguimiento del proceso de curación del jamón con contenido reducido en sodio mediante tecnología NIRS.

Se lleva a cabo un estudio de la viabilidad de la técnica de espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) en el seguimiento del proceso de curación de jamón con contenido reducido en sodio.

Para plantear la reducción de sales de sodio en el proceso de salazón de los jamones se hace a través de la sustitución de éstas por otras sales monovalentes como las de potasio o divalentes como las de calcio y magnesio.

El seguimiento del proceso de sustitución de sales se lleva a cabo mediante el estudio de la difusión de dichas sales y cómo afecta la reducción de sal a las propiedades organolépticas, actividad proteolítica y alteraciones microbianas. Para garantizar la obtención de jamón bien curado y con la textura deseable es preciso que durante el proceso de la sustitución parcial con otras sales, no se altere la actividad proteolítica. El estudio de la proteólisis durante el proceso

llevará a determinar los porcentajes adecuados de sustitución para mantener esta actividad.

La aplicación de la tecnología NIRS al seguimiento en línea de producción de las fases de salado, postsalado y curado, da información sobre el proceso de curación de forma rápida, precisa y no destructiva, permitiéndonos llevar un seguimiento y control de los parámetros más relevantes implicados en el proceso y comprobar si se ve alterada la actividad proteolítica durante la curación.

Resultados obtenidos:

- ✓ Seguimiento de un proceso de reducción de sal con sustitución parcial de las sales de sodio en jamón curado, mediante la determinación de las sales empleadas y los cambios bioquímicos referidos al proceso proteolítico mediante la determinación del índice de proteólisis y otros parámetros implicados en el proceso.
- ✓ Obtención de calibraciones NIR para los parámetros implicados en el seguimiento del proceso de sustitución de sales mediante NIR, en muestras de carne picada procedente de jamones tratados en las diferentes etapas del proceso: humedad, grasa, proteína, actividad de agua, cloruro de sodio, sodio, potasio, nitrógeno e índice de proteólisis.

Capítulo 4. Aplicación de la Tecnología NIRS en la determinación del contenido de sodio en muestras de jamón curado loncheado con contenido reducido en sodio.

Las muestras que han sido curadas con un proceso de salazón en el que se emplea una mezcla de sales de otros metales (Na, K, Ca y Mg) en diferentes porcentajes, presentan una matriz diferente a los jamones salados únicamente con cloruro de sodio.

Con el objetivo de corroborar la fiabilidad del método desarrollado en el capítulo 1, se lleva a cabo un estudio de la posibilidad de aplicar los modelos de predicción obtenidos para jamón curado loncheado, en las muestras de lonchas sometidas a diferente proceso de salazón.

Resultados obtenidos:

- ✓ Aplicación del modelo de predicción NIR de jamón curado loncheado para sodio en muestras de lonchas curadas con contenido reducido en sodio.
- ✓ Comparativa de los espectros obtenidos para ambos tipos de muestras.
- ✓ Estudio y conclusiones de la desviación de las muestras obtenidas con diferente salazón con respecto al conjunto de calibración de muestras curadas únicamente con sodio.

Tecnología NIRS

Aplicación en la industria de jamón curado

On-line

Off-line

*Modelo de predicción de **sodio** en producto final*

*Modelo de predicción de **parámetros** del proceso de elaboración de jamón curado reducido en sodio*
(Capítulo 3)

Etiquetado nutricional del producto loncheado
(Capítulo 1)

Clasificación piezas enteras
(Capítulo 2)

Aplicar modelo de predicción de sodio al producto loncheado con distinto salazón
(Capítulo 4)

A technical line drawing of a robotic arm. The arm is mounted on a base with two vertical supports. It has a multi-jointed structure with a camera lens and a sensor array at the end. The text is overlaid on the central part of the diagram.

CAPÍTULO 1

APLICACIÓN DE LA TECNOLOGÍA NIRS PARA AMPLIAR LA INFORMACIÓN NUTRICIONAL DEL PRODUCTO JAMÓN CURADO LONCHEADO EN FUNCIÓN DE SU CONTENIDO EN SODIO

CONTENIDO

Este capítulo se divide en dos apartados, en función de las posibilidades de su aplicación industrial en la línea producción del producto loncheado y envasado. El primero corresponde al desarrollo de modelos de predicción, fundamentalmente para el contenido en sodio en la línea de envasado del producto. El segundo, más específico, tiene en cuenta la influencia de la temperatura en el desarrollo de estos modelos, debido a posibles variaciones de la misma durante el proceso de medida.

I. MODELOS DE CALIBRACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DEL PARÁMETRO SODIO MEDIANTE LA TECNOLOGÍA NIR ON-LINE

I.1 ANTECEDENTES	79
I.2 EXPERIMENTACIÓN	85
I.2.1 Diseño experimental	85
I.2.2 Adquisición de espectros	86
I.2.3 Análisis de referencia	88
I.2.4 Análisis quimiométrico: Modelos de predicción NIR	89
I.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	90
I.3.1 Análisis de referencia	90
I.3.2 Análisis espectroscópico	91
I.3.3 Características de los espectros	92

I.3.4 Información espectral	93
I.3.5 Resultados de calibración NIR	97
I.3.5.1 <i>Evaluación de modelos predictivos</i>	97
I.3.5.2 <i>Validación de los modelos</i>	104
I.3.5.3 <i>Resultados finales de calibración</i>	106
II. MODELOS DE PREDICCIÓN NIR PARA COMPENSAR LA INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA	
II.1 ANTECEDENTES	111
II.2 EXPERIMENTACIÓN	113
II.2.1 Diseño experimental	113
II.2.2 Análisis de referencia y adquisición de espectros	114
II.2.3 Análisis quimiométrico: Modelos de predicción NIR	114
II.3 RESULTADOS Y DISCUSION	115
II.3.1 Análisis de referencia	115
II.3.2 Análisis espectroscópico	115
II.3.3 Desarrollo de modelos de compensación de temperatura	116
II.3.3.1 <i>Modelo de compensación local</i>	117
II.3.3.2 <i>Validación de los modelo de compensación local a otras temperaturas</i>	120

II.3.3.3 <i>Modelo de compensación global</i>	121
II.3.3.4 <i>Validación del modelo de compensación global a otras temperaturas</i>	123
III. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO	125
IV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	126

I. MODELOS DE CALIBRACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DEL PARÁMETRO SODIO MEDIANTE LA TECNOLOGÍA NIR ON-LINE

I.1 ANTECEDENTES

El etiquetado de los alimentos es, hoy en día, una de las fuentes de referencia más fiables de información suministrada al consumidor. Las normas sobre prevención de enfermedades derivadas de una inadecuada alimentación, forman parte de la actividad y preocupación habitual tanto de Organismos Institucionales como de la población en general. Se trata de recomendar los alimentos más saludables, bien desde el punto de vista de las características propias del mismo o desde las perspectivas de su elaboración, de ahí la importancia de que el consumidor conozca en la forma más precisa posible la composición de los productos alimenticios que consume.

El contenido en sal, más concretamente en sodio, toma una importancia relevante en la alimentación por su implicación directa en problemas cardiovasculares que requieren de un control exhaustivo de este parámetro, ya que provoca un efecto perjudicial sobre el organismo, aumentando la presión arterial, por lo que, sus niveles deben estar perfectamente controlados. Sin embargo, el cloruro de sodio (NaCl) es un ingrediente funcional muy importante en muchos productos cárnicos curados, pues, por un lado su adición causa la solubilización y extracción de las proteínas miofibrilares, mejorando notablemente las propiedades de unión de la grasa y el agua de los productos cárnicos, dando lugar a un gel proteico durante la maduración del jamón, imprescindible para que adquiera la consistencia adecuada (Ventanas et al., 2001), y por otro, el NaCl, desde el punto de vista microbiológico, aumenta la vida útil del producto. Otro aspecto, no menos importante, es el efecto de este ingrediente sobre el refuerzo de los sabores de la

carne. Por lo tanto, es crucial el seguimiento de sodio en el procesamiento de productos cárnicos.

El jamón curado es un producto cárnico tradicional de amplio consumo en la zona del Mediterráneo. En España, el proceso de curado típico consta de diferentes etapas: primera etapa de *presalado y salazón*, donde los jamones se cubren con sal; segunda etapa de *postsalado/reposo*, en la que los jamones se mantienen refrigerados para la estabilización de la sal; y finalmente, la tercera etapa de *secado/maduración*, en la cual se aumenta progresivamente la temperatura, mientras que la humedad relativa se va reduciendo hasta secar los jamones, desarrollándose la típica apariencia, textura y sabor (Flores et al., 2009).

Esta técnica de fabricación se ha utilizado básicamente con el fin de estabilizar el producto y mantenerlo a temperatura ambiente sin riesgo de alteración y facilitando el desarrollo de sus características sensoriales (Arnau et al., 2001). Una de las consecuencias directas de estos tratamientos es el alto contenido en sal en el producto final, lo que hace que este producto sea un alimento poco recomendado en los consumidores con problemas cardiovasculares.

Los paquetes de lonchas de jamón curado, envasadas a vacío, son una de las presentaciones comerciales más habituales. Estos envases se caracterizan por tener una composición muy heterogénea (Gou et al., 2013). Por un lado, el contenido de sal depende de su absorción y variará según su distribución dentro del jamón. Por otro lado, las lonchas empaquetadas pueden contener distintos tipos de músculo, que difieren en su contenido en agua, grasa y sal (Boadas et al., 2001, citado por Gou et al., 2013). La información del contenido de estos parámetros en cada uno de los envases puede, por lo tanto, ser utilizada no sólo para estimar la vida útil del producto, sino también, para incluir información nutricional adicional en su etiquetado asociada a la salud de los consumidores. Además, debido a las variadas preferencias del consumidor de jamón en términos

de sabor salado, grasa intramuscular y curación (Resano et al., 2010; Hersleth et al., 2011), la inclusión de su composición en los paquetes de lonchas de jamón curado, daría la posibilidad de elegir el producto en función de sus preferencias, provocando a la vez un importante desafío en este tipo de industria.

Los procesadores de carne, que transforman las materias primas en productos listos para consumo, deben tener absoluta seguridad sobre la calidad del producto cárnico que les proporcionan sus proveedores, dado que para poder fabricar productos dentro de las preferencias del consumidor y las exigencias legislativas de los diferentes mercados, la composición de la carne debe estar totalmente de acuerdo con ambas demandas. Las líneas de procesado (por lotes o continuas) aumentan la necesidad de implantar un estricto control de calidad y así lograr la optimización del producto. Un requisito previo y fundamental para la aplicación de tales tecnologías es conseguir información de la composición química desde un análisis en tiempo real.

El análisis de la composición química de la carne, tradicionalmente se ha llevado a cabo, por métodos de referencia vía húmeda, en laboratorios fuera de las líneas de producción. Los procedimientos convencionales utilizados para la determinación de diferentes parámetros implican la extracción o la digestión del analito, seguido por el análisis con diversas técnicas analíticas, algunas costosas, que requieren bastante tiempo y generan residuos contaminantes.

Desde el punto de vista de la industria, para llevar a cabo las mediciones y control de la composición nutricional, es muy útil el empleo de una técnica analítica rápida, no destructiva y si es posible en la misma línea de procesado (on-line). La Espectroscopía de Infrarrojo Cercano (NIRS) ha demostrado ser una herramienta rápida y eficaz en el análisis de la calidad de la carne para una amplia variedad de productos y parámetros (Monin, 1998) y su aplicación puede reemplazar los

métodos convencionales que son más lentos y laboriosos. En este estudio se analiza la viabilidad de utilizar NIRS para determinar de manera rápida el contenido de sodio en jamón curado loncheado, lo que permite además del seguimiento de este elemento en el proceso de elaboración industrial, una información adicional relevante y precisa para el consumidor.

La aplicación más tradicional de NIRS es el análisis cuantitativo y requiere el desarrollo de calibraciones o modelos de predicción. La calibración puede ser definida como el desarrollo de un modelo quimiométrico que relaciona los datos espectrales con los datos de referencia de un conjunto de muestras para el parámetro en estudio (Pérez-Marín et al., 2007). La ecuación de calibración así obtenida permite la predicción del contenido de los parámetros de otras muestras similares a las incluidas en el conjunto de calibración. El modelo puede ser bastante complejo, ya que el espectro obtenido en la región normal de trabajo de los equipos NIRS (1.100-2.500 nm) es muy variable y contiene toda la información físico-química de la muestra (Shenk et al., 1995-96). Por lo tanto, debido a que es complicado encontrar longitudes de onda específicas en la región infrarroja cercana que aporten información relevante, es necesario el desarrollo de una calibración multivariante, basada en un conjunto de valores de absorción a varias longitudes de onda (Naes et al., 2002).

Esta técnica reúne las condiciones de ser sensible, rápida y no destructiva, además de fácil preparación de las muestras y permite una evaluación simultánea de otras propiedades de la carne (Collell et al., 2011). Existen suficientes estudios disponibles en la literatura que avalan la tecnología NIR como un método prometedor para el análisis de la carne. Prevolnik et al. (2004) y Prieto et al. (2009), llevaron a cabo una revisión de diversos estudios ya publicados donde se informaba sobre el alto potencial de la espectroscopía NIR para determinar propiedades químicas de la carne y en consecuencia clasificarla en función de su

calidad. También Prevolnik et al. en 2010, evaluaron la espectroscopía NIR como una herramienta para determinar diferentes compuestos químicos en carnes crudas y productos cárnicos elaborados para su comercialización.

Si nos centramos concretamente en la aplicación de la espectroscopía NIR en jamón curado, debemos hacer referencia a los trabajos de Collell et al. (2011), Prevolnik et al. (2011) y Gou et al. (2013), enfocados en la determinación de diferentes compuestos de interés en este tipo de producto. Por otro lado, con referencia a la calidad sensorial, son de gran interés los trabajos realizados por García-Rey et al. (2005) y Ortiz et al. (2006). En todos los estudios se demuestra la gran capacidad de la espectroscopía NIR para realizar este tipo de determinaciones de una forma rápida y precisa.

Los estudios de Huang et al. (2008) ponen de manifiesto que la espectroscopía NIR es una de las herramientas más eficientes para el control y seguimiento de los procesos en las industrias de alimentos, ya sea desde el laboratorio (at-line) o en la propia línea de procesado (on-line), debido a sus ventajas: mínima o ninguna preparación de la muestra, rapidez de medida y análisis de bajo coste. Desde hace algún tiempo, las aplicaciones on-line de productos cárnicos se han adaptado principalmente a la determinación de varios componentes en muestras homogéneas, como es el caso de la carne picada (Tøgersen et al., 1999; Hildrum et al., 2004; Tøgersen et al., 2003; Shackelford et al., 2004).

Recientemente, el NIR se aplica tanto a productos cárnicos no manipulados como a otros durante su procesado sin necesidad de alterar la línea de producción, así Gaitán-Jurado et al. (2008) estimaron el contenido de agua y grasa de salchichas en rodajas y Collell et al. (2011, 2012) demostraron la capacidad de esta tecnología analizando on-line la humedad, actividad del agua y NaCl en la superficie del jamón durante su proceso de curación, y en la superficie de chorizo y salchichón durante el proceso de secado. En los estudios antes mencionados,

cuando se analiza el contenido en NaCl, este no se determina directamente, sino que el espectro NIR recoge en esta región los sobretonos y las combinaciones de las vibraciones moleculares fundamentales de moléculas que contienen C-H, N-H y grupos O-H tales como agua, grasa o proteína. La sal no absorbe radiación en la región NIR, sin embargo si afecta a las vibraciones moleculares de los grupos O-H y por lo tanto puede estimarse a partir de los correspondientes espectros, dado que cambios en el contenido de sodio originados por la adición de NaCl durante el proceso de curación afectarán al agua y en consecuencia a su espectro (Ellekjaer et al., 1993).

En base a los últimos estudios citados, el objetivo de trabajo de esta tesis doctoral se dirige a evaluar la viabilidad de la aplicación de la técnica NIR en la determinación on-line de la humedad y el contenido en sodio de jamón curado loncheado, lo que nos puede generar información precisa y relevante en cada uno de los productos envasados.

En la actualidad, se buscan métodos no invasivos con aplicación en la mayor parte de los procesos industriales alimentarios, estos métodos por lo tanto presentan un gran interés en la industria cárnica de productos curados como el jamón y una de sus principales aplicaciones sería la determinación del contenido final de sodio en jamón, sobre todo en curado loncheado por su mayor accesibilidad al consumidor y la demanda existente, dadas sus características de calidad alimentaria.

El seguimiento del parámetro sal sobre la línea de procesado de jamón curado loncheado ayuda a tener un control inmediato sobre las características tecnológicas propias de su producción sin ralentizar ni disminuir el volumen y velocidad de la misma. Así mismo, también facilita la elección del consumidor a la hora de optar por un producto adecuado a su salud o preferencia en cuanto al contenido en sal.

Las aportaciones de este trabajo constituyen una mejora tangible tanto para la industria, permitiendo un mayor control sobre un parámetro crítico en un producto final heterogéneo con un alto valor añadido, como para el cliente, al que se le proporciona información precisa y concreta sobre el alimento que está adquiriendo, teniendo en cuenta la relevancia que el sodio tiene en la dieta.

I.2 EXPERIMENTACIÓN

I.2.1 Diseño experimental

Para el diseño de experimentos se tuvieron en cuenta muchos factores implicados directamente en el desarrollo de un modelo robusto de predicción. La toma espectral se llevó a cabo en el Centro Tecnológico CARTIF en una sala independiente acondicionada en temperatura y humedad para asemejarse a la línea de envasado de la empresa. Se llevó a cabo un estudio preliminar sobre las características y la adaptación de la línea, velocidad, temperatura, posición del equipo de medición, disposición de las bandejas de jamón loncheado y del producto, temperatura de la muestra cuando la bandeja alcanza el punto de medida espectral y selección de muestras con un amplio rango de sal.

La aplicación en la línea se define por el tiempo espectral, que no sólo establece la velocidad de la línea, sino también el número y disposición de las sondas de medición. Las sondas miden simultáneamente, con lo cual deben estar ubicadas de manera que puedan medir cada una de las bandejas en el menor tiempo posible sin que se retrase el proceso de producción.

Selección de las muestras

Se llevó a cabo una selección de jamones curados tan diferentes como fue posible en el contenido de sal utilizada para el salazón. Se incluyeron muestras de diferentes marcas y orígenes, la mayoría del grupo CAMPOFRÍO ALIMENTACIÓN, S.A de las factorías de Trujillo (Cáceres), Torrijos (Toledo) y Burgos, y además,

otras marcas procedentes de Francia y Alemania. Todas las muestras son loncheadas y envasadas por el mismo procedimiento.

En la selección de la muestra, un criterio importante ha sido la utilización de loncheados en los que se eligieron para el estudio todos los músculos de la pieza entera de jamón curado, que según lo indicado por Arnau et al. (1995) y Boadas et al. (2001), difieren en sus contenidos en agua, grasa y sal. Cuando el período de curación finaliza, los jamones se deshuesan, se descortezan y se encajan en unos moldes rectangulares para ser almacenados en cámaras de congelación durante varias semanas. Estos bloques de jamón congelado se introducen en la línea de envasado y se cortan en finas lonchas todas las partes del jamón (punta, maza y codillo).

Para el estudio se utilizaron 310 bandejas de lonchas de todas las zonas de jamón. En este caso, el punto más adecuado para tomar el espectro es directamente sobre la muestra de jamón antes de poner el film transparente en la bandeja, de esta manera se evitan posibles interferencias del plástico en la señal. En este punto, la temperatura de las lonchas está entre -12 y -10 °C. El control de la temperatura, antes de hacer el espectro, tanto en la línea de envasado como durante el estudio que se ha llevado a cabo en CARTIF, se realizó utilizando una cámara termográfica Fluke modelo Ti32.

Para la calibración y antes de realizar las medidas por NIR, se congelan las muestras, de este modo se eliminan las variaciones de señal debidas a la diferencia de temperatura entre las muestras.

1.2.2 Adquisición de espectros

Las medidas se realizaron por interactancia-reflectancia con el espectrómetro NIR con transformada de Fourier modelo Matrix-F de Emisión Bruker Optik [Figura 1(b)] que abarca desde los 12.000 hasta los 4.000 cm^{-1} (830-2.500 nm), equipado

con el software quimiométrico OPUS™ versión 7.0. Se empleó una sonda de emisión Q-412/AF de medición remota de la misma marca, con dos fuentes de tungsteno que emiten a distancia sin contactar con la muestra. La sonda se colocó en un soporte, ajustando la altura de la bandeja a una longitud de camino óptico constante de 10 cm, se realizaron los espectros de una porción de superficie circular, de 10 mm de diámetro en la zona central de la mitad de la loncha [Figura 1(a)].

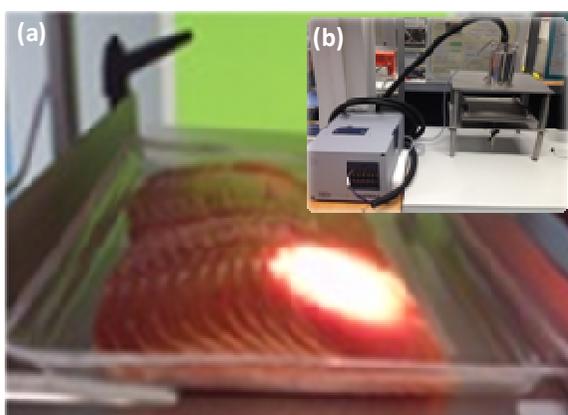


Figura 1. (a) Imagen de la irradiación sobre la muestra con la sonda de medición remota y (b) Equipo NIR on-line

Las muestras se seleccionaron al azar. Se obtuvieron cuatro espectros por muestra, dos de ellos se toman a 16 barridos y otros dos a 8, ambos realizados con una resolución de 16 cm^{-1} . El tiempo de adquisición para cada par de espectros fue de 2,47 y 5,01 s, respectivamente.

La evaluación de la robustez del método NIRS incluye la variación de ciertos factores operacionales y ambientales (Pojic et al., 2001) y aunque la temperatura es un factor que no se suele tener en cuenta en los análisis NIR (Williams, 2008, citado por Prevolnik et al., 2011), en algunos trabajos, se ponen de manifiesto errores significativos en las predicciones NIR en función de la misma (Buning-Pfaue, 2003; Hageman et al., 2005; Shenk et al., 2008). Por lo tanto, con el fin de

estudiar esta influencia, el proceso se llevó a cabo a dos rangos de temperatura: T_0 entre -12 y -8 °C y T_1 entre 16 y 20 °C.

I.2.3 Análisis de referencia

Posteriormente a la adquisición de espectros, se llevaron a cabo los análisis vía húmeda. Se tomaron las seis primeras medias lonchas de la zona irradiada de cada bandeja y se picaron y homogenizaron usando un molino de laboratorio (IKA-Werke GmbH & Co. KG), para su posterior análisis vía húmeda. Se calcularon los errores estándar del método de referencia (SEL).

El contenido de humedad se determinó por la pérdida de peso de la muestra después de 24 horas a 103 °C ± 2 según la AOAC (1990).

La composición de sodio se analizó por espectrofotometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES), utilizando el modelo 720-ES de Varian, después de someter las muestras previamente picadas a un proceso de digestión química empleando un bloque de digestión (Bloc digest, Selecta). Se pesaron alrededor de 2 g de muestra picada y se llevaron a un tubo de digestión al que se añaden 20 ml de disolución HCl-HNO₃ en relación 9:1, se programó el digestor a 45 minutos y 90 °C, a continuación se enfría hasta temperatura ambiente, se filtra y el líquido de filtrado se llevó a un matraz de 100 ml con agua desionizada. La disolución resultante se almacenó a 4 °C, en botes de polipropileno para su posterior análisis.

La cuantificación se obtuvo a partir de las correspondientes líneas de calibrado a partir de un patrón de 1000 ppm en medio ácido nítrico 0,5 M. Los resultados obtenidos, como las medias de dos determinaciones, se expresan en gramos de sodio por 100 g de materia húmeda.

I.2.4 Análisis quimiométrico: Modelos de predicción NIR

Los modelos de calibración se han desarrollado mediante regresión por mínimos cuadrados parciales (PLSR), utilizando dos software quimiométricos OPUS/QUANT™ versión 7.0 y The Unscrambler 10.2. Se ha empleado el método de validación cruzada para determinar el número de factores de las ecuaciones de los modelos de regresión, evitando el sobreajuste.

Para optimizar la precisión de los modelos reduciendo el ruido y los efectos de dispersión de los espectros adquiridos, se emplearon transformaciones mediante tratamientos matemáticos y de corrección de dispersión. Durante el proceso de calibración los valores atípicos se identificaron y se eliminaron del modelo. Al disponer de un conjunto de muestras pequeño, en un primer desarrollo, se emplearon todas las muestras en el conjunto de calibración. Un vez obtenidas las ecuaciones con sus respectivos coeficientes de determinación (R^2 , R^2_{cv}) y los errores de predicción (RMSEC, RMSECV), se llevaron a cabo la validación externa de los mejores modelos obtenidos utilizando un grupo de muestras extraídas del conjunto de calibración (aproximadamente un 10 %), la precisión de los modelos se evaluó mediante los errores de predicción (RMSEP) y la capacidad predictiva (RPD).

Para concluir si los modelos desarrollados eran buenos se utilizó el valor del error estándar del método de referencia (SEL), que representa el error del método seguido en la determinación del parámetro sodio en el laboratorio y se comparó con los errores de predicción obtenidos tanto en la calibración como en su posterior validación.

I.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

I.3.1 Análisis de referencia

La Tabla 1 resume los estadísticos descriptivos de humedad y sodio, expresado como porcentaje en base húmeda, de las 310 muestras de jamón curado loncheado obtenidos por el método de referencia. La Figura 2 representa la distribución de las muestras para ambos parámetros. Los resultados obtenidos para el sodio están comprendidos entre 1 y 3 %, contenido habitual de sodio en este tipo de muestras y tienen entre 30 y 60 % de humedad. Estos resultados revelan un buen rango de variabilidad que representa una base importante para el desarrollo de los modelos de predicción.

Tabla 1. Resumen estadístico de los análisis químicos

Parámetro (%)	Nº muestras	Promedio	Rango	SD ^a	CV ^b (%)
Humedad	310	49,27	30,27-59,62	6,34	12,87
Sodio	310	2,00	1,21-3,10	0,45	22,73

^a SD, desviación estándar

^b CV, coeficiente de variación (SD * 100/promedio)

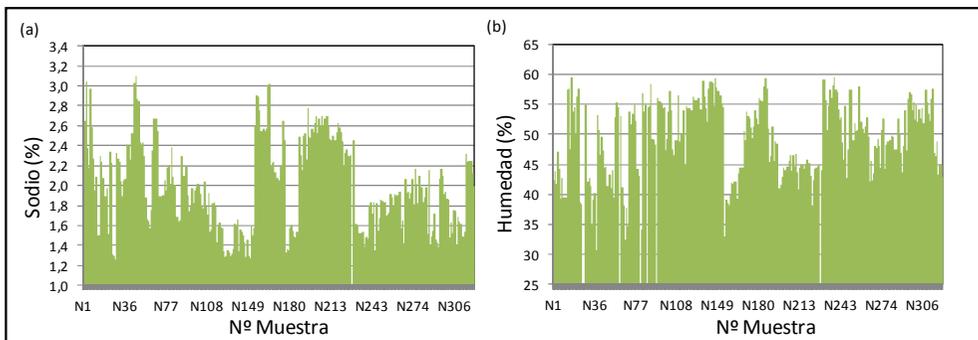


Figura 2. Distribución de las muestras analizadas en función del contenido en: (a) sodio y (b) humedad

Todo el conjunto de muestras (310) se divide en dos grupos, conjunto de calibración (290 muestras) y conjunto de validación (30 muestras) para el desarrollo de validación externa.

I.3.2 Análisis espectroscópico

La temperatura de la muestra tiene un efecto directo en el espectro NIR relacionado con los enlaces de hidrógeno y los cambios conformacionales que afectan significativamente el contenido de humedad de las muestras. Los cambios espectrales inducidos térmicamente normalmente se atribuyen a los cambios en el grado de enlaces de hidrógeno de la muestra (Otal et al., 2003). El aumento de la temperatura de la muestra provoca una disminución en el número de puentes de hidrogeno entre moléculas, y por tanto, un aumento en los grupos hidroxilo (OH) libres. Además, los puentes de hidrogeno debilitan los enlaces covalentes de los grupos hidroxilo, lo que provoca que vibren a frecuencias más bajas. En el caso del agua, el aumento de la temperatura también da lugar a una disminución en la intensidad de las bandas de estiramiento de los OH (Hageman et al., 2005). Por lo tanto, los cambios de frecuencia e intensidad de las bandas de los grupos OH están directamente relacionados con la fuerza del enlace de hidrógeno que, a su vez, es dependiente de la temperatura, por lo que, variaciones de menos de 5 °C son capaces de inducir errores significativos en las predicciones NIR (Hansen et al., 2000 citado por Cozzolino et al., 2007).

Con el objetivo de estudiar esta influencia, se tomaron espectros de cada muestra a dos temperaturas: T_0 (temperatura del jamón tras ser loncheado, -12/-8 °C) y T_1 (temperatura ambiente, 16/20 °C). Se llevó a cabo una comprobación de la temperatura de la muestra en la línea de envasado de la propia fábrica (T_0) con el fin de plantear una metodología de trabajo en las mismas condiciones en las que se desarrolla el proceso industrial (Figura 3).

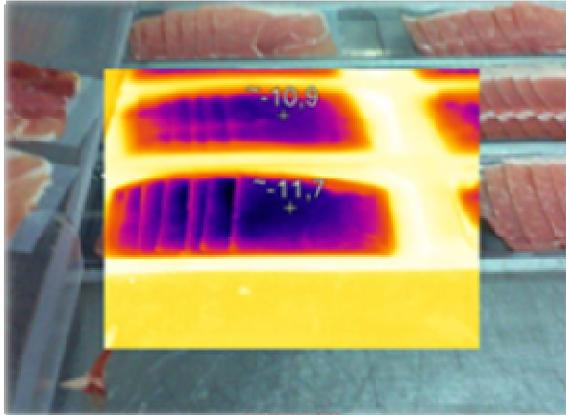


Figura 3. Medición de la temperatura de la muestra en la línea de envasado de la fábrica usando la cámara termográfica

I.3.3 Características de los espectros

Los espectros adquiridos para cada muestra, a diferentes temperaturas y número de barridos, presentaban una forma muy similar e incluso los máximos aparecen en la misma región de frecuencias. Cabe destacar que algunas muestras presentaban espectros muy planos y tumbados, en comparación con otros, en el rango entre 4.000 y 7.500 cm^{-1} . Estas muestras tenían una apariencia de color más oscuro y seco, y pertenecían a las lonchas de otra marca de jamones, esto implicaba la presencia de diferencias en la matriz de la muestra, pudiendo ser debido a un proceso de curado diferente. La Figura 4 muestra el conjunto completo de espectros adquiridos en 16 barridos y temperaturas T_0 ($-12/-8\text{ °C}$) y T_1 ($16/20\text{ °C}$).

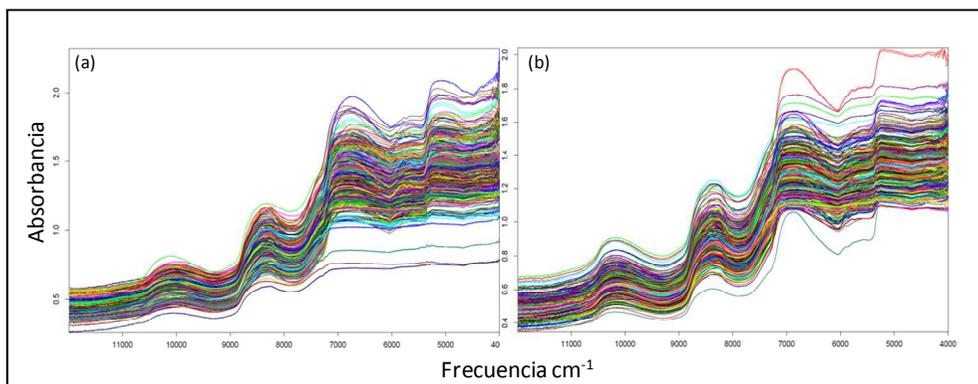


Figura 4. Espectros NIR de 310 muestras de jamón curado loncheado (a) T_0 (-12/-8 °C) y (b) T_1 (16/20 °C), obtenidos por reflexión a 16 barridos con una sonda de fibra óptica remota

1.3.4 Información espectral

Se llevó a cabo el estudio del espectro promedio de todo el conjunto de muestras a las dos temperaturas estudiadas, empleando los espectros procesados con el pre-tratamiento matemático, de derivada de primer orden. En los espectros tomados con 16 barridos [Figura 5 (a)], se pudieron observar algunos picos anchos en las bandas de 10.490; 7.010-6.860 y 7.214-7.189, 5.170 cm^{-1} , que se relacionan con el segundo armónico del enlace O-H, su primer armónico de estiramiento y sus vibraciones de combinación, respectivamente. Dichas bandas se asocian directamente con el contenido de agua en las muestras (Cozen, 2006). La derivada de primer orden transforma el espectro permitiendo que se puedan apreciar ligeramente en estas bandas las diferencias entre los espectros recogidos a las dos temperaturas y, por lo tanto, los cambios en los espectros debido a esta influencia [Figura 5 (b)].

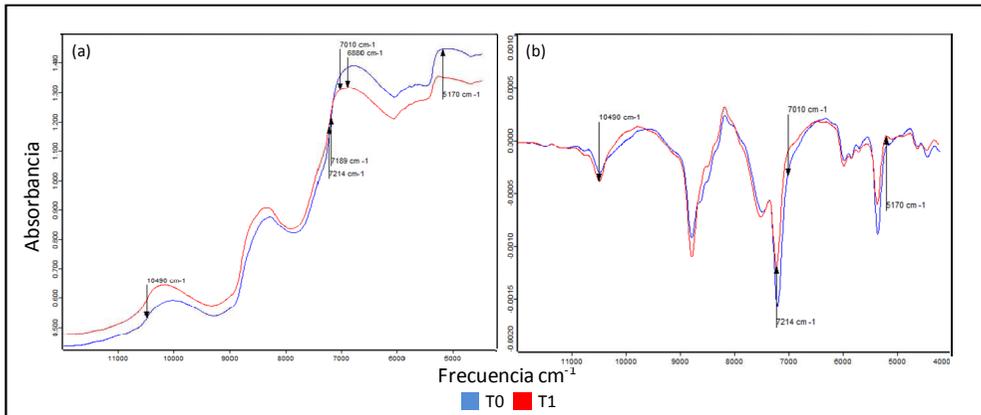


Figura 5. (a) Espectro NIR promedio (12.000–4.000 cm^{-1}) de jamón curado loncheado a las temperaturas: $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $18\text{ }^{\circ}\text{C}$. (b) Tratamiento matemático del espectro (primera derivada)

Por otro lado, el análisis NIR de sodio en jamón se basa en los cambios en el componente agua del espectro de la carne. Las variaciones de temperatura provocan cambios en las cantidades relativas de los grupos OH libres y enlazados, que también pueden ser causados por los cambios en el nivel de sal. Debido a estas influencias en los espectros y basándonos en el estudio de Begley et al. en 1984, donde se llegó a la conclusión de que los cambios inducidos por la sal en el espectro del agua, pueden ser aislados de otras variaciones espectrales, mediante tratamiento matemático (derivadas de primer y segundo orden), se puede concluir en el estudio que existe una alta correlación entre el contenido de sal determinada por análisis químico y por los espectros NIR a la frecuencia de 5.537 cm^{-1} , sin influir, en este caso, la variación de temperatura.

La Figura 6, muestra un ejemplo de los espectros de absorción sometidos al tratamiento matemático de primera derivada de dos muestras muy diferentes en el contenido en sodio, la muestra N146 con 1,21 % Na y la muestra N16 con 2,97 % Na, donde se puede apreciar una clara diferencia en este pico de absorción. Con la segunda derivada también se observa esta diferencia, pero se arrastra mucho ruido espectral comparado con la primera derivada.

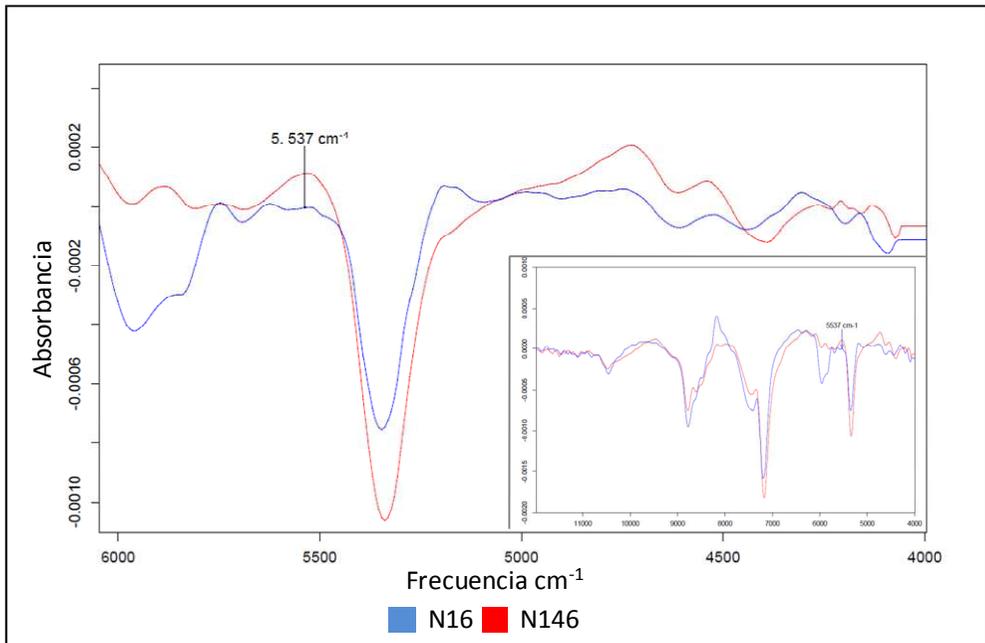


Figura 6. Primera derivada de los espectros NIR de dos muestras, N146 y N16, muy diferentes en el contenido de sodio a temperatura T_0 (1,21 y 2,97 % Na, respectivamente)

Si se comparan los espectros de la misma muestra a las dos temperaturas no se observan cambios apreciables (Figura 7). Esto demuestra que en esta región se puede asumir una correlación directa entre la absorción en la región NIR con el contenido de sodio de la muestra y por lo tanto, este pico puede ser aislado de los armónicos OH relacionados con las bandas de absorción del agua, evitando la dependencia con la temperatura. Sin embargo, debido a la similitud de los efectos de la sal y temperatura sobre los espectros del agua, para evitar errores, resulta imprescindible mantener constante uno de estos parámetros cuando se está midiendo la incidencia del otro.

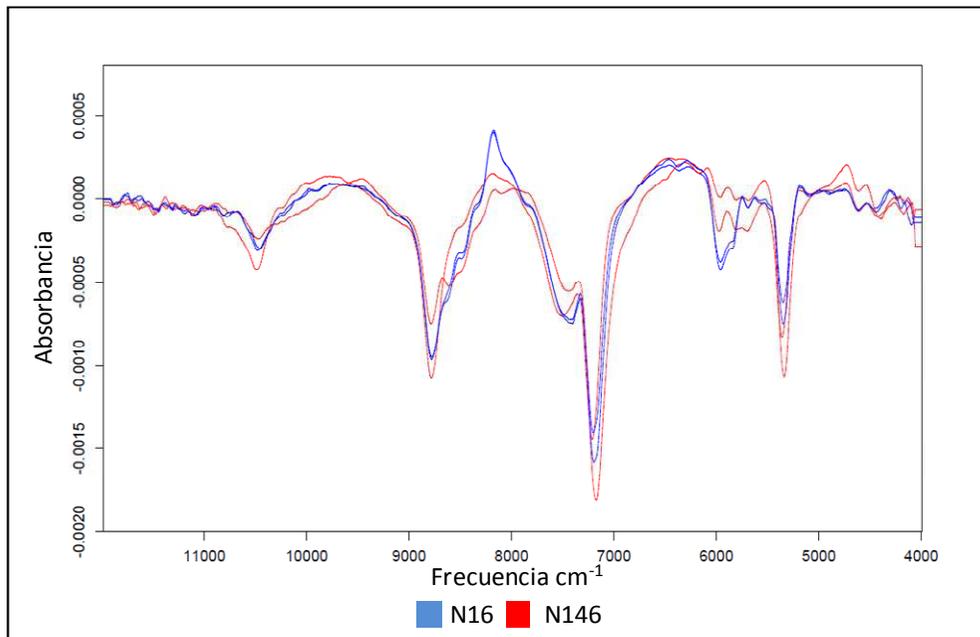


Figura 7. Primera derivada de los espectros NIR de dos muestras muy diferentes en el contenido de sodio a las temperaturas: -10°C y 18°C

No obstante, a pesar de las diferencias encontradas y aunque se ha detectado que a esta frecuencia se pueden apreciar cambios en el contenido de sal, las muestras de jamón curado presentan un espectro NIR lo suficientemente complicado, como para ser necesario la aplicación de estudios quimiométricos para extraer la máxima información de los datos obtenidos espectralmente. En la región de infrarrojo cercano se observan las bandas de solapamiento y combinaciones de los enlaces fundamentales pertenecientes a diferentes componentes, por tanto las variaciones en el contenido de sal influyen en todas ellas. Para el desarrollo de tales modelos, se debe tener en cuenta: las contribuciones al ruido espectral y a las bandas de absorción de aquellos componentes que puedan originar interferencias.

Para la realización de los correspondientes calibrados, las bandas con valores de absorbancia entre 0,7 y 1,5 generalmente conducen a mejores resultados, a tales efectos, nunca las señales saturadas deben ser utilizadas.

1.3.5 Resultados de calibración NIR

Para las mediciones espectrales se realizaron diferentes calibraciones a distintas temperaturas y número de barridos, midiendo un conjunto de 310 bandejas de jamón curado loncheado de diferentes partes de la pieza de jamón. Para el análisis quimiométrico, el método de regresión aplicado fue el análisis por mínimos cuadrados parciales (PLS).

1.3.5.1 Evaluación de modelos predictivos

Inicialmente se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA). Mediante los gráficos de puntuación se visualizan aquellas muestras que se desvían de todo el conjunto de calibración y que durante el desarrollo de la calibración pueden presentarse como valores atípicos/outliers. Se eliminaron las muestras redundantes teniendo en cuenta 5 factores del análisis de componentes principales.

Las evaluaciones de los modelos fueron realizados por validación cruzada, el conjunto de muestras de calibración se dividieron en subconjuntos de 6 muestras. La selección del mejor método de pre-procesamiento del espectro se basaba en la obtención del menor error de predicción en la validación cruzada. El grado de correlación entre los valores reales y los predichos se determina con el cálculo del coeficiente de determinación (R^2_{cv}).

La selección del rango espectral adecuado tiene gran importancia para la calidad de un modelo PLS y se debe utilizar el rango de frecuencias del espectro donde se

puede encontrar una buena correlación entre los cambios en el espectro y los datos de concentración del componente estudiado.

Se llevó a cabo la detección de los valores atípicos para identificar la discordancia entre el valor de referencia y el resultado predicho. Estas muestras debieron ser eliminadas del conjunto de datos cuando los valores eran causados por una medición errónea o si las muestras eran muy diferentes del conjunto de calibración. Algunas veces el estudio del espectro de los valores atípicos podía indicar la presencia de una característica que necesita ser representada en el conjunto de datos de calibración. En este caso, estas muestras se deben mantener para ser incluidas en el conjunto de calibración cuando se detecten otras muestras similares. Los espectros de las muestras pertenecientes a jamón de una marca concreta, en un primer momento, eran consideradas outliers, debido a diferencias visuales al compararlas con el resto de espectros del conjunto, pero se decidió dejarlas dentro del mismo y que fuera el propio análisis quimiométrico quien las identificase como outliers, ya que estas muestras fueron, en principio, procesadas y medidas en las mismas condiciones. Solo un pequeño grupo de ellas se eliminaron tras la calibración, conociendo a posteriori que habían sido tratadas con un proceso diferente.

Los outliers son detectados e identificados por un crecimiento en la distancia de Mahalanobis. Cuanto peor es la correlación entre los espectros de las muestras que se usan para validar el conjunto de datos de calibración dentro de la validación cruzada, mayores son las distancias de Mahalanobis correspondientes.

Otros parámetros utilizados en el reconocimiento de valores atípicos fueron: el *residual* calculado como la diferencia entre el valor verdadero y el predicho; la *influencia estadística* que es una medida de la repercusión de una muestra en el modelo, los valores atípicos mostraban un valor de influencia estadística anormalmente alto; y los *gráficos de puntuación* de los componentes principales

donde las muestras atípicas aparecen como extremos con respecto al conjunto de calibración. En la Figura 8, las muestras en rojo representan ejemplos de valores atípicos detectados durante el trabajo, presentando una gran distancia de los valores de referencia respectivos (gran residual).

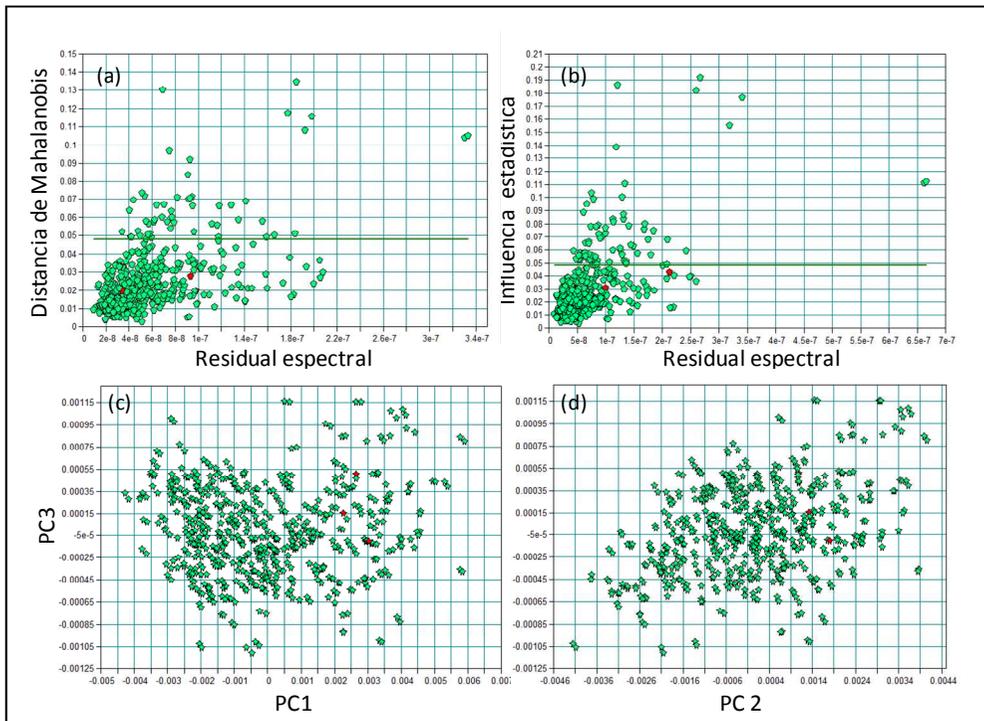


Figura 8. (a) Distancia de Mahalanobis frente al residual espectral, (b) Influencia estadística frente al residual y gráficos de puntuación: (C) PC3 frente a PC1 y (d) PC3 frente a PC2

Los parámetros estadísticos de calibración se obtuvieron para cada uno de los componentes después de la eliminación de los valores atípicos. Se estableció el límite de eliminación de valores atípicos en dos pasos basándonos en los estudios de Fernández-Cabanas et al. (2006, 2007), lo que demuestra que con los dos primeros pasos es posible detectar las anomalías. El número de valores atípicos

detectados durante la calibración representa el 6 % del conjunto de calibración inicial. Este porcentaje es consistente con los resultados obtenidos en estos estudios previos. También se identificaron varios valores extremos dudosos, y en este caso se desarrollaron varios modelos incluyendo o no estas muestras y se evaluaron mediante validación externa.

Se desarrollaron múltiples modelos de calibración para humedad y sodio variando los pre-procesamientos matemáticos, la región espectral empleada y el rango de la ecuación. La Tabla 2 recoge los resultados obtenidos en los cuatro mejores modelos en cada caso, en dos de ellos se utilizaron los dos espectros tomados consecutivamente sobre la misma muestra en las mismas condiciones, mientras que en otros dos modelos se emplearon el espectro promedio de ambas medidas. Los resultados que se obtuvieron empleando el espectro promedio fueron mejores, por un lado, se promediaron las diferencias que podían aparecer en las dos medidas espectrales tomadas, aunque hubieran sido tomadas de forma consecutiva, como por ejemplo el calentamiento de la muestra tras la primera exposición al láser de la sonda y por otro lado, se tomó en cuenta que se asociaba un único espectro al valor de referencia del parámetro, además, el cálculo del espectro promedio de una muestra reduce el ruido espectral, ya que este es considerado aleatorio.

Con respecto a los tratamientos matemáticos de los modelos con el menor número de factores PLS (menor rango) que obtienen los mejores resultados, son la primera derivada combinada con dos métodos de pre-procesamiento de datos, la normalización vectorial (SNV) o la corrección de dispersión multiplicativa (CDM).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 2. Resultados obtenidos en calibración y validación interna para los parámetros sodio y humedad

Parámetro	Método de referencia	Condiciones de medida		Calibración						Validación cruzada		
		SEL	Temperatura	Nº Barridos	Nº muestras calibración	Rango de frecuencias (cm ⁻¹)	Pre-Procesamiento	Factores PLS	R ²	RMSEC	R ² _{cv}	RMSECV
Sodio (%)	0,11	T ₀	8	269	9.404-4.598	1ª d.+ CDM	14	92,00	0,126	88,17	0,15	2,91
				269	9.404-4.598	1ª d.+ SNV	15	91,97	0,126	87,81	0,15	2,86
				266	9.404-4.243	1ª d.+ CDM*	13	91,99	0,124	87,70	0,15	2,85
				266	9.404-4.243	1ª d.+ SNV*	13	92,10	0,123	87,85	0,15	2,87
			16	261	9.404-4.243	1ª d.+ CDM	14	92,08	0,124	88,58	0,15	2,96
				261	9.404-4.598	1ª d.+ SNV	14	91,91	0,125	88,83	0,15	2,99
				261	9.404-4.598	1ª d.+ CDM*	14	93,16	0,118	90,21	0,14	3,20
				261	9.404-4.598	1ª d.+ SNV*	15	93,43	0,116	90,12	0,14	3,18
		T ₁	8	258	9.404-4.598	1ª d.+ CDM	11	90,38	0,137	86,22	0,16	2,69
				258	9.404-4.243	1ª d.+ SNV	12	90,46	0,137	85,68	0,17	2,64
				260	9.404-4.598	1ª d.+ CDM*	11	90,69	0,132	86,29	0,16	2,70
				260	9.404-4.598	1ª d.+ SNV*	12	90,79	0,131	86,03	0,16	2,68
			16	251	9.404-4.243	1ª d.+ CDM	11	91,40	0,126	88,20	0,15	2,91
				251	9.404-4.243	1ª d.+ SNV	12	91,56	0,125	88,08	0,15	2,90
				261	9.404-4.243	1ª d.+ CDM*	14	93,67	0,111	88,91	0,14	3,00
				261	9.404-4.243	1ª d.+ SNV*	14	93,41	0,113	88,51	0,15	2,95

* Espectros promedio

Aplicación de la tecnología NIRS para ampliar la información nutricional del producto jamón curado loncheado en función de su contenido en sodio

Parámetro	Método de referencia	Condiciones de medida		Calibración						Validación cruzada			
		SEL	Temperatura	Nº Barridos	Nº muestras calibración	Rango de frecuencias (cm ⁻¹)	Pre-Procesamiento	Factores PLS	R ²	RMSEC	R ² cv	RMSECV	RPD
Humedad (%)	0,50		T ₀	8	256	9.404-5.446	1ª d.+ CDM	9	85,30	2,16	85,30	2,35	2,61
					256	9.404-5.446	1ª d.+ SNV	9	87,80	2,16	85,22	2,36	2,60
					255	9.404-4.598	1ª d.+ SNV*	10	89,67	2,02	86,85	2,23	2,76
					255	9.404-4.598	1ª d.+ CDM*	10	89,85	2,00	86,65	2,25	2,74
				16	257	9.404-5.446 4.428-4.243	1ª d.+ SNV	10	88,16	2,16	85,45	2,37	2,62
					257	9.404-4.598	1ª d.+ CDM	11	88,24	2,16	85,22	2,39	2,60
					256	7.506-4.243	1ª d.+ SNV*	10	90,04	2,11	87,21	2,34	2,80
					256	7.506-4.243	1ª d.+ CDM*	10	89,96	2,13	87,15	2,34	2,79
			T ₁	8	256	9.404-4.598	1ª d.+ SNV	8	88,29	2,22	85,45	2,45	2,62
					256	9.404-4.598	1ª d.+ CDM	8	88,34	2,21	85,42	2,45	2,62
					256	9.404-5.446	1ª d.+ SNV*	8	90,21	2,04	86,31	2,36	2,70
					256	9,404-5.446 4.605-4.243	1ª d.+ CDM*	9	88,64	2,19	85,75	2,41	2,65
				16	256	9,404-5.446 4.605-4.243	1ª d.+ SNV	8	89,24	2,10	86,94	2,30	2,77
					256	9.404-4.598	1ª d.+ CDM	8	89,35	2,09	86,84	2,31	2,76
					255	9.404-4.243	1ª d.+ CDM*	8	88,86	2,18	86,06	2,40	2,68
					255	7.506-5.446 4.605-4.243	1ª d.+ SNV*	8	88,50	2,22	85,73	2,43	2,65

* Espectros promedio

El contenido de sodio se estima empleando en la ecuación del modelo entre 11 y 15 factores PLS, los mejores modelos se obtienen aplicando una combinación de CDM o SNV con la primera derivada, independientemente de si se emplean los dos espectros o el promedio de ambos. Los valores de R^2_{cv} están comprendidos entre 86,2-90,2 %, lo cual demuestra una buena correlación entre las matrices de datos espectrales y de referencia del sodio. Los valores de RMSECV están entre 0,14 y 0,16 %.

El contenido de humedad se ha estimado empleando entre 8 y 11 factores PLS, un R^2_{cv} comprendido entre 85,2-87,2 % y un RMSECV de 2,23-2,43 %.

La precisión/exactitud de la espectroscopía NIR se puede evaluar de diferentes maneras. Debido a la dependencia de la espectroscopía NIR en la precisión del método de referencia (Monin, 1998), los errores de predicción (RMSECV) deben considerarse a la luz de la precisión de los métodos de referencia (de laboratorio) para la composición química. La respetabilidad del método de referencia (Tabla 2) es de 0,50 % y 0,11 % para el contenido en humedad y sodio, respectivamente. Los mejores modelos de predicción dan errores de predicción (RMSECV) de 2,23 % y 0,14 % para la humedad y sodio, respectivamente. Dado que los errores de validación cruzada se acercan a la repetitividad de los datos de referencia se confirma que la espectroscopía NIR está limitada por la precisión del método de referencia. A excepción de la humedad, tal y como se corrobora en el estudio desarrollado por Prevolnik et al. (2011), en el que obtienen la misma tendencia en ambos parámetros.

La Figura 9 muestra la correlación de los valores obtenidos en el laboratorio con respecto a aquellos predichos por NIR para humedad y sodio en las lonchas de jamón curado. Los gráficos para los valores predichos frente a los medidos (reales) para ambos parámetros, muestran que las muestras se distribuyen de manera uniforme a lo largo de la recta y próximos a ella en todo el rango.

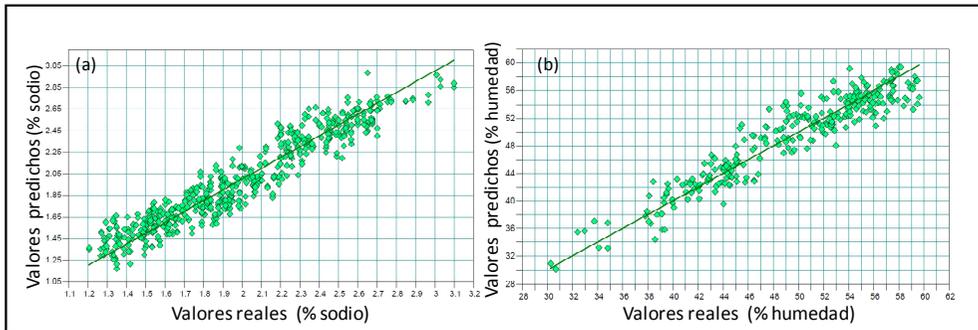


Figura 9. Gráfico de predicción NIR: Valores predichos frente a reales en los modelos medidos a T_0 y 16 barridos (a) Sodio, (n=261) y (b) Humedad, (n=256)

1.3.5.2 Validación de los modelos

La aplicabilidad del modelo de calibración es totalmente dependiente del conjunto de datos utilizados para crear el modelo. El aspecto más crítico de derivar los métodos de análisis NIR es asegurar que los modelos sean representativos de las variaciones en muestras futuras, compensándose las absorciones de interferencia y las diferencias de dispersión de luz que se encuentren. En consecuencia, la validación externa se lleva a cabo usando un conjunto independiente de muestras que representan todo el rango de análisis y todas las posibles variaciones espectrales.

Para el cálculo del error de predicción, RMSEP, se utiliza una comparación de los resultados del análisis de predicción con los datos de concentración originales del conjunto de validación. La capacidad de predicción del modelo se evaluó con el parámetro RPD. El modelo que obtiene los menores errores de predicción junto con la mayor RPD caracteriza los mejores métodos. En la Tabla 2, se muestran los valores de RPD, para la humedad se obtienen valores comprendidos entre 2,63-3,89 y para el sodio, de 2,98 a 3,63. Estos resultados demuestran que la capacidad de predicción puede ser considerada aceptable para la humedad y buena para el

sodio, lo que indica que la tecnología NIRS presenta una capacidad de predicción interesante para la determinación de la composición de sodio y humedad en muestras de jamones de origen desconocido, que hayan sido sometidos a un proceso de salazón semejante.

En los modelos robustos, la validación interna y externa deben llevar a resultados comparables. Como se resume en la Tabla 3, en la mayoría de los modelos, los errores RMSECV fueron similares a RMSEP lo cual demuestra la alta fiabilidad de los modelos desarrollados.

Tabla 3. Comparación de los resultados obtenidos en las validaciones interna y externa

Parámetro	Condiciones de medida		Modelo	RMSECV	RMSEP	RPD
	Temperatura	Nº Barridos				
Humedad (%)	T ₀	8	Dos espectros	2,51	2,59	3,01
			Espectro promedio	2,32	2,43	3,37
		16	Dos espectros	2,43	2,36	3,08
			Espectro promedio	2,26	1,72	3,39
	T ₁	8	Dos espectros	2,53	2,33	2,63
			Espectro promedio	2,40	1,77	3,83
		16	Dos espectros	2,45	1,74	3,24
			Espectro promedio	2,34	1,72	3,89
Sodio (%)	T ₀	8	Dos espectros	0,15	0,13	3,34
			Espectro promedio	0,15	0,13	3,25
		16	Dos espectros	0,15	0,13	3,43
			Espectro promedio	0,14	0,12	3,63
	T ₁	8	Dos espectros	0,16	0,16	2,98
			Espectro promedio	0,16	0,16	3,31
		16	Dos espectros	0,15	0,14	3,49
			Espectro promedio	0,14	0,13	3,54

Fijándonos en el parámetro sodio y eligiendo el mejor modelo (en negrita), si se comparan los valores obtenidos para ambas temperaturas entre los espectros tomados a 8 y 16 barridos, se observa que los errores de predicción, tanto en validación interna como externa, son menores cuanto mayor es el número de barridos y por lo tanto, mejor es la capacidad predictiva. A temperatura T_0 se obtienen para 8 barridos, 0,15 de RMSECV y 0,13 de RMSEP, mientras que para 16 se obtienen 0,14 y 0,12, de RMSECV y RMSEP, respectivamente. Al igual ocurre a temperatura T_1 , a 8 barridos se obtiene 0,16 para ambos errores y a 16 barridos 0,14 y 0,13 de RMSECV y RMSEP respectivamente. Todos los errores de predicción obtenidos están comprendidos en el rango de incertidumbre del método de referencia para la determinación de sodio mediante ICP, que representa el 15 % del valor de la concentración (0,18-0,47) dentro del rango de las muestras empleadas en los modelos (1,21-3,09 % sodio).

En cuanto a la capacidad predictiva, para T_0 se obtiene 3,25 y 3,63, y para T_1 , 3,31 frente a 3,54 a 8 y 16 barridos respectivamente. En cualquier caso supera el valor de 3 a partir del cual el modelo predictivo es considerado como adecuado para el análisis cuantitativo del parámetro sodio medido mediante tecnología NIRS. Para el parámetro humedad se obtiene la misma tendencia, tal y como se puede comprobar en la Tabla 3.

1.3.5.3 Resultados finales de calibración

Una vez que se seleccionan los modelos, las muestras utilizadas en validación se incluyen en el conjunto de calibración y se construyen nuevamente los modelos de predicción (Tabla 4). Para todas las condiciones de medida se cumple que los valores de los parámetros R^2_{cv} , RPD y RMSECV son mejores debido al incremento en el número de muestras empleadas en la construcción de los nuevos modelos. El mejor modelo para la predicción de ambos parámetros es el que se obtiene

para las condiciones de temperatura T_0 empleando 16 barridos por espectro, lo que supone un tiempo de medida de cinco segundos. Para el caso del sodio la ecuación requiere 14 factores PLS (Figura 10) obteniéndose un error de predicción de 0,13 % con un coeficiente de correlación del 91 % y una capacidad predictiva de 3,35.

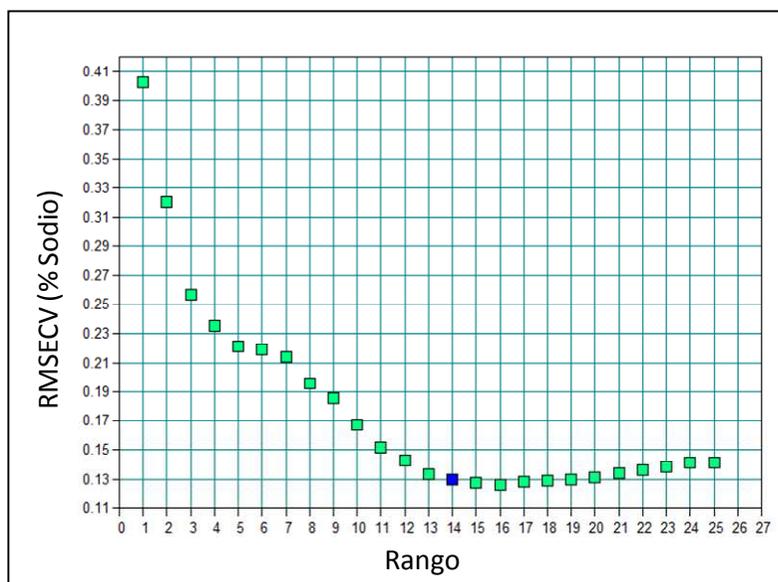


Figura 10. Error de predicción de validación cruzada (RMSECV) frente al número de factores PLS (Rango). Modelo de predicción con espectros promedio a T_0 y 16 barridos

Para el parámetro humedad se obtiene un ajuste del 88 %, con un error de predicción de 2,26 % que aunque a priori se aleja del error del método de referencia de 0,50 %, resulta asumible, considerando las ventajas que presenta la rapidez de la determinación mediante NIRS.

Tabla 4. Resultados obtenidos en la calibración para todo el conjunto de muestras

Parámetro	Condiciones de medida		Calibración				Validación cruzada					
	Temperatura	Nº Barridos	Nº muestras calibración	Pre-Procesamiento	Factores PLS	R ²	RMSEC	R ² cv	RMSECV	RPD		
Humedad (%)	T ₀	8	285	1ª d.+ CDM	8	86,12	2,37	84,25	2,51	2,52		
			284	1ª d.+ CDM*	9	89,39	2,09	86,56	2,32	2,73		
		16	285	1ª d.+ CDM	10	87,84	2,24	85,35	2,43	2,61		
			285	1ª d.+ SNV*	10	89,59	2,11	87,62	2,26	2,84		
	T ₁	8	285	1ª d.+ SNV	8	86,43	2,41	84,64	2,53	2,55		
			285	1ª d.+ CDM*	6	88,46	2,20	86,01	2,40	2,67		
		16	284	1ª d.+ CDM	8	87,27	2,27	84,87	2,45	2,57		
			284	1ª d.+ CDM*	8	88,77	2,18	86,55	2,34	2,73		
		Sodio (%)	T ₀	8	296	1ª d.+ CDM	14	92,16	0,12	88,93	0,15	3,01
					295	1 st d+SNV*	14	92,72	0,12	89,14	0,14	3,03
16	284			1ª d.+ CDM	14	93,08	0,12	90,77	0,13	3,29		
	286			1 st d+SNV*	14	94,00	0,12	91,08	0,13	3,35		
T ₁	8		287	1ª d.+ CDM	11	90,33	0,14	87,04	0,16	2,78		
			289	1ª d.+ CDM*	11	90,82	0,14	87,20	0,16	2,79		
	16		280	1 st d+SNV	14	92,80	0,12	89,34	0,14	3,06		
			290	1ª d.+ CDM*	14	93,72	0,11	89,94	0,14	3,09		

* Espectros promedio

En general, los modelos construidos usando los 2 espectros o el promedio presentan resultados muy similares, siendo ligeramente mejores en el segundo caso. En todos ellos el número de muestras utilizado cuando se emplean los dos espectros es inferior, lo que indica que durante el desarrollo de la calibración hay un mayor número de muestras que no encajan en el modelo y se consideran outliers, teniéndose que eliminar para obtener los resultados que se presentan en las tablas. Por lo tanto, se considera más adecuado seleccionar los modelos que utilizan el espectro promedio para trabajar en rutina. Como conclusión y en el caso que nos ocupa, el modelo a utilizar en la línea de envasado será el obtenido en las mismas condiciones que las reales de la línea, temperatura alrededor de -10 °C y medida de 5 segundos por bandeja para llevar a cabo la medida espectral (Tabla 4: en negrita).

El desarrollo de las calibraciones se ha llevado a cabo para lonchas de jamón curado que incluyen a los diferentes músculos de la pieza entera de jamón. Los resultados obtenidos, en general, indican que los modelos logrados obtenidos para los parámetros de humedad y sodio, permiten obtener una aceptable precisión y son apropiados para su aplicación en la determinación analítica de la composición del jamón curado loncheado en análisis de rutina mediante NIR, sin tratamiento previo ni manipulación. Al emplear todos los músculos de la pieza de jamón curado, se arriesga precisión, pero se garantiza la posibilidad de utilizarlos en la totalidad del producto y en consecuencia que el método presente grandes ventajas para su utilización en la industria del jamón curado.

Una vez implantada la tecnología desarrollada en la fábrica del jamón loncheado, deberá ser sometida a un mantenimiento periódico (aproximadamente anual) que implicará la inclusión de más muestras medidas en la misma línea de envasado. Una vez que la validación se ha llevado a cabo y los modelos han sido ajustados,

estas muestras se incluirán en el conjunto de calibración, de esta manera, la robustez del método mejorará cada año de su aplicación.

II. MODELOS DE PREDICCIÓN NIR PARA COMPENSAR LA INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

II.1 ANTECEDENTES

Las variaciones de la temperatura en espectroscopía NIR pueden influir en los modelos de calibración desarrollados para la predicción de las muestras de interés. La absorbancia se ve afectada directamente por los cambios de temperatura, los cuales provocan desplazamientos de las bandas de absorción e incluso variaciones en la intensidad de las señales por lo cual, este parámetro, temperatura de la muestra, se debería tener siempre presente en la construcción del modelo o la capacidad de predicción del mismo, que se podría ver seriamente afectada. Además, en una matriz compleja como la que presenta el tipo de alimento procesado que se ha estudiado, sus componentes absorben radiación a diferentes longitudes de onda provocando variaciones en la absorbancia como consecuencia de las diferentes características de estos componentes (Zhang et al., 2010). Por lo que, estas variaciones en las bandas de absorción del espectro, pueden ser debidas tanto al efecto de la temperatura como a la variación de los diferentes componentes que conforman el alimento.

Una alternativa para solventar el problema de la temperatura sería mantenerla constante. Sin embargo en la práctica, por lo general, resulta bastante complicado y por lo tanto esta técnica de medición óptica se vería muy limitada en términos de aplicabilidad.

El objetivo de este estudio es proponer un método para corregir el efecto de la temperatura, de modo que se puedan medir muestras a diferentes temperaturas sin conocimiento previo de las mismas y en consecuencia disminuir el error inducido por esta variación a niveles aceptables para su aplicación práctica.

Con el fin de minimizar el efecto de la temperatura en la predicción NIR del parámetro sodio, se desarrollan modelos de compensación utilizando medidas espectrales tomadas en diferentes condiciones de temperatura. Dependiendo de los espectros empleados en calibración (validación cruzada) y en validación externa se construyen dos tipos de modelos de compensación de temperatura: local y global (Yao et al., 2013).

Los *modelos de compensación de temperatura local* se refieren al conjunto de espectros de muestras que han sido medidos a una temperatura o intervalo concreto, desarrollando primero los modelos que después se validan empleando muestras medidas a otras temperaturas diferentes. El fin de estos modelos locales es comprobar en cuál de ellos influye menos la temperatura al ser aplicados a muestras en condiciones de temperatura diferente o desconocida. El desarrollo de estos modelos consiste en una primera calibración en la que se valoró el error de predicción en validación cruzada RMSECV, seguida por dos procesos de validación con muestras ajenas al grupo de calibración, en el primer caso, se emplearon muestras pertenecientes al mismo rango de temperatura y en el segundo, la validación externa se llevó a cabo con muestras medidas a otras temperaturas. En los dos últimos pasos se valoró el error de predicción obtenido en la validación externa (RMSEP) y la capacidad predictiva del modelo (RPD).

El *modelo de temperatura global* utiliza espectros de las muestras que han sido medidas abarcando todo el rango de temperaturas, con lo que se consiguieron valores muy similares de los errores de predicción (RMSECV) al compararlos con los modelos locales, e incluso de los errores RMSEP de la validación externa con muestras del mismo grupo. En este modelo global, al emplear muestras a todas las temperaturas, el error de predicción que se obtuvo cuando se aplicó a unas muestras desconocidas es bastante menor, siendo de este modo la calibración construida mucho más robusta para su aplicación a muestras reales.

Las técnicas multivariantes, tales como la regresión PLS, utilizan la covarianza entre la variante espectral y la información del analito para establecer un modelo de regresión que explique la variación del parámetro de interés a partir de la variación espectral. Si la señal de los interferentes se correlaciona con la del analito, el algoritmo PLS no puede distinguir entre analito e interferentes, luego, cuanto más débil es esta correlación, más sencillo resulta distinguirlos (Florian et al., 1998). El modelo de predicción de temperatura global trata la temperatura como interferente desconocido, la cual afecta generalmente a las medidas espectrales de manera no lineal, mientras que la incidencia de los compuestos químicos es lineal (Zhang et al., 2010). Por consiguiente, debido a la diferente influencia en el espectro entre analito y temperatura, la regresión PLS puede ser de gran utilidad en la determinación del componente medido a diferentes temperaturas.

II.2 EXPERIMENTACIÓN

II.2.1 Diseño experimental

Se definieron tres rangos de temperatura: I (-12/-5 °C), II (-5/+10 °C) y III (+10/+20 °C) y dos conjuntos de muestras, calibración (C) y validación externa (P). Los espectros empleados en ambos grupos resultaron del promedio de dos medidas espectrales realizadas consecutivamente sobre la muestra. En función de la temperatura de la muestra a la que se han tomado los espectros en calibración y validación, se distinguieron los siguientes grupos: espectros del conjunto de calibración en los tres rangos de temperatura: CI (291 espectros) / CII (n=107) / CIII (n=291) y espectros del conjunto de validación en los tres rangos de temperatura: PI (n=291) / PII (n=107) / PIII (n=291).

Para los modelos de compensación local se construyeron 3 calibraciones empleando en cada una de ellas los espectros tomados en cada rango de temperatura y se validaron con los otros dos grupos. De este modo, la calibración construida empleando el grupo de espectros medidos en el rango de temperatura -12/-5 °C, CI, se validó con PII y PIII, y así, para el resto de los casos.

Para establecer el modelo de compensación global, en primer lugar, se seleccionaron tres subgrupos de muestras variadas dentro de cada rango de temperatura que representen a cada grupo, empleando la distribución de los espectros dentro del análisis de componentes principales (PCA). En segundo lugar, dentro de esta selección se separaron aproximadamente el 20 % de muestras de cada conjunto para llevar a cabo la validación externa. Se emplearon un total de 327 espectros, 265 para la calibración y 62 para validación externa.

Los espectros restantes de cada uno de los rangos de temperatura se utilizaron para validar individualmente el modelo global construido.

II.2.2 Análisis de referencia y adquisición de espectros

Para llevar a cabo el desarrollo de las calibraciones se utilizaron los espectros NIR promediados correspondientes cada uno de ellos a dieciséis barridos y recogidos a diferentes temperaturas, así como los valores de referencia del sodio obtenidos vía húmeda. Todo ello referido a las muestras del capítulo 1.1.

II.2.3 Análisis quimiométrico: Modelos de predicción NIR

Los modelos de calibración se desarrollaron mediante regresión por mínimos cuadrados parciales (PLSR), utilizando el método de validación cruzada.

II.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

II.3.1 Análisis de referencia

En la tabla 5 se recogen los descriptores estadísticos de los tres conjuntos de muestras en función del rango de temperatura a la que se realizó la medida espectral.

Tabla 5. Resumen estadístico de los análisis químicos

Temperatura	Nº Muestras	Rango (% Sodio)	Promedio (% Sodio)	SD ^a	CV% ^b
I (-12/-5°C)	291	1,21-3,10	2,00	0,45	22,73
II (-5/+10°C)	107	1,27-3,10	2,11	0,40	19,00
III (+10/+20°C)	291	1,21-3,10	1,98	0,43	21,72

^a SD, desviación estándar

^b CV, coeficiente de variación (SD * 100/promedio)

II.3.2 Análisis espectroscópico

En el espectro promedio de los grupos de muestras en los 3 rangos de temperatura (Figura 11), se puede observar que a frecuencias superiores a 7.100 cm^{-1} , la absorbancia disminuye al aumentar la temperatura. Este resultado es similar al encontrado por Cozzolino et al. (2007), que observaron que la absorbancia a bajas frecuencias con respecto a la posición del máximo correspondiente al primer armónico de estiramiento del enlace O-H (6.940-7.140 cm^{-1}), disminuye con el aumento de la temperatura.

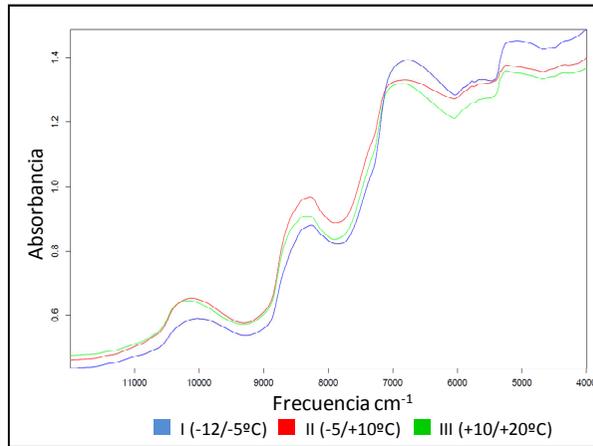


Figura 11. Espectro NIR promedio (12.000–4.000 cm^{-1}) de jamón curado loncheado en los tres rangos de temperaturas

II.3.3 Desarrollo de modelos de compensación de temperatura

Se aplicó un análisis PCA para examinar los patrones dominantes en los datos espectrales. Si se representan gráficamente los scores (gráfico de puntuaciones de cada espectro en el espacio de las componentes principales) de las muestras escaneadas a diferentes temperaturas (Figura 12), se observa que aquellos espectros recogidos dentro del mismo intervalo de temperatura tienden a agruparse. Además se aprecia una clara separación entre los rangos I (color azul) y III (color verde), debida principalmente a la gran diferencia entre temperaturas entre ambos intervalos, este efecto sobre los espectros NIR, según Hageman et al. (2005), puede venir determinado por los cambios en la temperatura que inducen cambios en la conformación de las moléculas. Con respecto a los espectros pertenecientes al rango II (color rosa), al encontrarse entre los otros dos intervalos y teniendo en cuenta que la temperatura de estas muestras fue tomada antes de ser irradiadas por el láser de la sonda, es comprensible que se solapen

prácticamente con el grupo III, ya que este calentamiento que sufren las muestras durante la medida desplaza los espectros hacia dicho grupo.

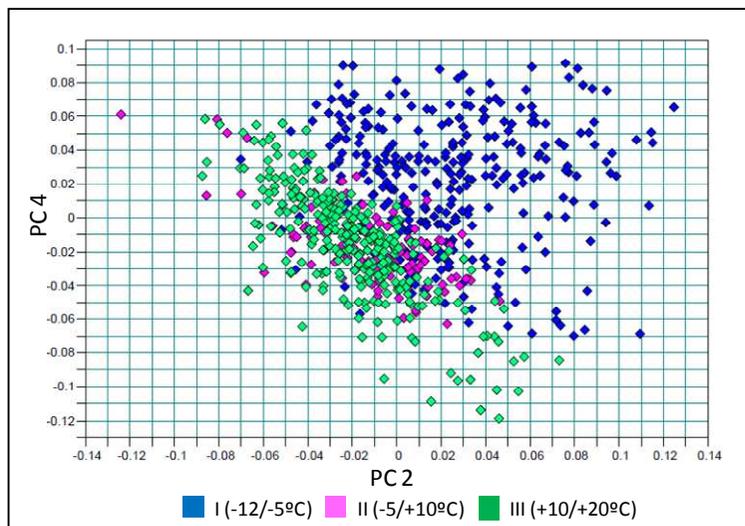


Figura 12. Gráfico de puntuación de los componentes principales PC2 y PC4

Para el desarrollo de aplicaciones prácticas de medida del contenido de ciertos parámetros sobre matrices alimentarias complejas, como es el caso de la determinación de sodio en muestras de jamón curado loncheado, la técnica NIRS necesitará ser capaz de compensar las fluctuaciones de temperatura inducidas por los factores medioambientales y de manipulación de las muestras. Para ello, se desarrollarán modelos de compensación de temperatura local y global.

II.3.3.1 Modelo de compensación local

Para evaluar cuantitativamente la influencia de la temperatura, se desarrollaron modelos de predicción para cada uno de los rangos de temperatura seleccionados (CI, CII y CIII) mediante regresión por mínimos cuadrados parciales y utilizando el método de validación cruzada. Después de detectar y eliminar las muestras outliers presentes en cada grupo, con la medida de la distancia de Mahalanobis y

del residual espectral, los espectros resultantes se emplearon para desarrollar los modelos. En la tabla 6, se muestran tanto los valores de calibración como de validación externa, empleando en ambos desarrollos muestras pertenecientes al mismo grupo.

Tabla 6. Calibración y validación externa en los diferentes rangos de temperatura

Parámetros	Modelo		
	CI	CII	CIII
Temperatura	I (-12/-5°C)	II (-5/+10°C)	III (+10/+20°C)
Rango de frecuencias (cm ⁻¹)	9.404-4.598	9.404-4.598	9.404-4.243
Pre-Procesamiento	1ª d.+ CDM	1ª d.+ CDM	1ª d.+ CDM
Factores PLS	14	10	14
Calibración (Validación cruzada)			
Nº Muestras Calibración	261	86	261
R ² _{cv}	90,21	81,88	89,91
RMSECV (% Sodio)	0,14	0,17	0,14
RPD	2,96	2,35	3,00
Validación externa			
Nº muestras validación	30	21	30
RMSEP (% Sodio)	0,13	0,15	0,13
RPD	3,44	3,00	3,40

Atendiendo a los valores de los coeficientes de regresión en validación cruzada R²_{cv}, se ha observado que los obtenidos para los modelos CI y CIII, 90,21 % y 89,91 %, respectivamente (Tabla 6), se aproximan al 90 %, ambos modelos se obtienen con el mismo número de muestras (n = 261). En el caso del modelo CII, el valor de R²_{cv} es de 81,88 %, bastante inferior a los dos casos anteriores.

Este hecho se debe fundamentalmente al menor número de muestras del conjunto de calibración ($n= 89$). Al igual ocurre si se comparan tanto los valores de los errores de predicción RMSECV, 0,14, 0,17 y 0,14 % Na, como las capacidades predictivas RPD en validación cruzada, 2,96, 2,35 y 3, para los modelos CI, CII y CIII, respectivamente.

Para el caso de las validaciones externas, se observa la misma tendencia al comparar los valores de RMSEP y de RPD, obteniéndose unos errores de 0,13 % Na y una RPD de 3,44 para los modelos CI y CIII y un RMSEP de 0,15 % Na con 3 de RPD para CII. En este caso la diferencia no es tan apreciable debido a que el conjunto de muestras para validar el modelo CII representa el 25 % de las muestras del conjunto de calibración, mientras que para los otros dos modelos únicamente el 12 %, y al igual que en calibración el número de muestras empleado afecta a los resultados, por lo tanto en este caso está más compensada esta diferencia por el mayor empleo de muestras para validar el modelo CII.

En la Figura 13, se muestran los gráficos para los valores predichos frente a los obtenidos mediante análisis vía húmeda (reales) para los tres modelos, en los tres grupos de muestras se observa que estas se distribuyen de manera uniforme a lo largo de la línea de regresión, siendo las pendientes próximas a la unidad, lo que indica un buen ajuste de los modelos. Concretamente para los modelos CI y CIII, el valor de la pendiente es 0,91 y para CII se obtiene un peor ajuste con una pendiente de 0,84.

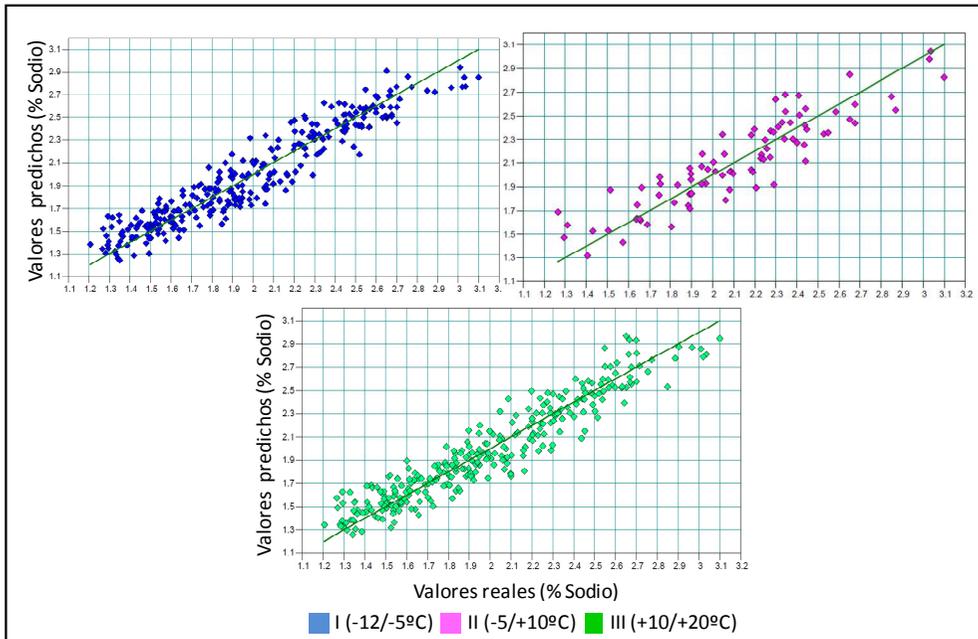


Figura 13. Gráfico de predicción NIR: Valores predichos frente a reales (% sodio) para los tres rangos de temperatura

II.3.3.2 Validación de los modelo de compensación local a otras temperaturas

Para establecer una comparación directa entre los modelos de predicción en cada rango de temperatura, se estudiaron los errores de predicción (RMSEP) resultantes de las validaciones externas de cada modelo local con los espectros pertenecientes a los otros grupos.

Los resultados obtenidos indican que los modelos locales son sensibles a las desviaciones de temperatura (Tabla 7) y por lo tanto, a medida que se desvía esta variable del rango de temperatura en el que se han desarrollado, se alcanzan mayores errores de predicción. Como se comprueba al comparar estos resultados con los RMSEP obtenidos en las validaciones en las que se emplearon espectros medidos a la misma temperatura (Tabla 7: valores en gris). Sin considerar estas validaciones, para el modelo CI el mayor valor de RMSEP se alcanza con PIII siendo

de 0,30 % Na frente a 0,24 % Na obtenido en PII. Para CIII se observa la misma tendencia, con valores de RMSEP de 0,96 y 0,26 % Na, para PI y PII respectivamente.

En el caso de CII, los errores obtenidos corroboran las conclusiones derivadas del análisis de PCA (Figura 12), donde los espectros de este grupo se solapan con los del grupo III, por lo tanto, el valor de RMSEP para PI (1,23 % Na) se aleja bastante del obtenido para PIII (0,26 % Na).

Tabla 7. Resultados de validación externa (RMSEP) de los modelos de temperatura local

Modelos	Espectros validación					
	PI		PII		PIII	
	RMSEP (% Sodio)	RPD	RMSEP (% Sodio)	RPD	RMSEP (% Sodio)	RPD
CI	0,13	3,44	0,24	1,90	0,30	2,01
CII	1,23	0,47	0,15	3,00	0,26	1,80
CIII	0,96	0,60	0,26	1,58	0,13	3,40

II.3.3.3 Modelo de compensación global

En este estudio se desarrolló un modelo de calibración global, usando análisis quimiométrico por regresión PLS, que permite corregir la influencia de la temperatura de la muestra. Tanto la calibración, mediante validación cruzada, como la validación externa se llevaron a cabo empleando una selección de muestras pertenecientes a los tres intervalos de temperatura (Tabla 8). En la validación cruzada se obtuvo un coeficiente de regresión R^2_{cv} de 88,89 %, con un error de predicción RMSECV de 0,14 % Na y una capacidad predictiva de 3. En la validación externa el error de predicción RMSEP obtenido tiene un valor de 0,15 % Na, con una RPD de 3,01. Por lo tanto, el modelo desarrollado se considera lo suficientemente robusto para el análisis de rutina, debido a que el valor de R^2_{cv} es

relativamente alto, los valores de los errores de predicción obtenidos en calibración y en validación externa son muy similares y los valores de RPD son iguales a 3.

Tabla 8. Modelo de temperatura global

Parámetros	Modelo Global
Rango de frecuencias (cm ⁻¹)	9.404-4.598
Pre-Procesamiento	1ª d.+ CDM
Factores PLS	18
Calibración (Validación cruzada)	
Nº Muestras Calibración	254
R ² _{cv}	88,89
RMSECV (% Sodio)	0,14
RPD	3,00
Validación Externa	
Nº Muestras Validación	62
RMSEP (% Sodio)	0,15
RPD	3,01

En la Figura 14 se muestra la correlación de los valores de referencia obtenidos en el laboratorio para el parámetro sodio, con respecto a aquellos predichos por el modelo de predicción de temperatura global. La ecuación de la línea de tendencia (indicada en color verde) es $y = 0.90x + 0.19$, siendo el coeficiente de correlación de 0,94, este valor es indicativo del buen ajuste del modelo. En la Figura 14 también está representada la línea de regresión ideal (color azul), cuanto más se ajusten los puntos a esta línea o la pendiente de la línea de regresión real obtenida se aproxime a la unidad, mejor será el modelo (Xie et al., 2011).

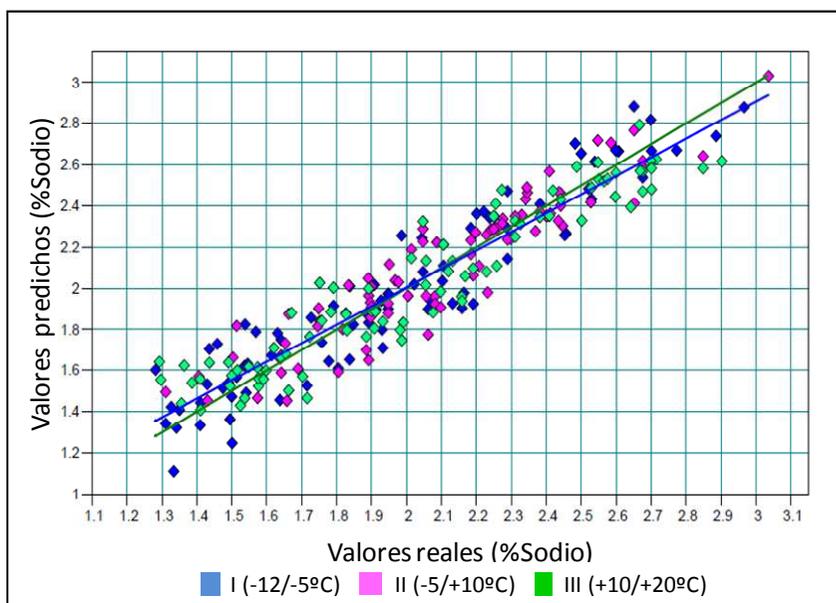


Figura 14. Gráfico de predicción NIR: Valores predichos frente a reales (% Na) (n=254)

El error de predicción RMSEP (0,15 % Na) obtenido en el modelo de temperatura global es bastante más bajo que los obtenidos en los modelos de temperatura local, que se encuentran entre los valores de 0,24 y 1,23 % Na, mostrados en la tabla 7, lo cual indica la buena precisión de la predicción. Además, se debe resaltar que a excepción del modelo CII, el resto de los modelos han sido construidos con un número de muestras muy similar, hecho que influye mucho a la hora de mejorar la precisión de un modelo y por tanto en este caso, las diferencias obtenidas entre los modelos no se deben al conjunto de muestras sino al único factor diferente, como es la temperatura, en la medición de las mismas.

II.3.3.4 Validación del modelo de compensación global a otras temperaturas

Al igual que en las validaciones externas presentadas en los modelos de temperatura local, se desarrollaron validaciones externas independientes aplicadas al modelo global, empleando los tres grupos de muestras para la

predicción PI, PII y PIII (Tabla 9). Los valores de los errores de predicción obtenidos son 0,154, 0,152 y 0,150 % Na, para PI, PII y PIII, respectivamente. La similitud de los resultados, tanto entre ellos como con el error RMSEP (0,152 % Na) resultado del compendio de temperaturas, indica la buena capacidad de predicción del modelo de compensación de temperatura global.

Tabla 9. Validación externa del modelo de temperatura global con los 3 grupos de espectros en los diferentes rangos de temperatura

PI		PII		PIII	
RMSEP (% Sodio)	RPD	RMSEP (% Sodio)	RPD	RMSEP (% Sodio)	RPD
0,154	2,89	0,152	3,00	0,150	2,57

El modelo de temperatura global comparado con los modelos de calibración de temperatura local, obtiene resultados más precisos con errores de predicción menores para las muestras de validación, a excepción de los modelos de temperatura local construidos y validados con muestras pertenecientes al mismo rango de temperatura. Incluso en este último caso, el método global resulta ser más ventajoso al poderse aplicar a muestras con temperatura desconocida, evitándose la construcción de nuevos modelos para cada temperatura. Sin embargo, se debe considerar la desviación de temperatura máxima permitida entre la muestra y el modelo de calibración, lo que implica conocer las fluctuaciones de temperatura representativas donde se va a aplicar el modelo, y por tanto seleccionar muestras que hayan sido medidas en condiciones que abarquen todo el rango.

III. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO

1. Se ha conseguido la calibración de un equipo NIR on-line que permite medir el contenido en sodio de muestras de jamón curado loncheado en la propia línea de envasado de la empresa. Se ha obtenido una precisión de la predicción en validación externa (calibración) de 91 %, con un error de 0,13 % Na y una capacidad predictiva de 3,35, permitiendo clasificar el jamón curado loncheado en función de su contenido en sal.
2. El procedimiento propuesto para la determinación del sodio en jamón curado, un parámetro complicado de medir en un matriz tan compleja, mejora la precisión de los modelos desarrollados hasta la actualidad, permitiendo a su vez aportar datos muy importantes en el proceso de elaboración industrial y con alto interés para el consumidor por su relación con la salud.
3. Se ha desarrollado un modelo de predicción para el parámetro humedad que consigue un buen ajuste en validación cruzada con un valor del coeficiente de determinación del 88 %. El error de predicción obtenido de 2,26 % humedad supera al que se obtiene mediante el método de referencia, no obstante el modelo se considera aceptable para su uso, considerando la gran importancia que tiene la rapidez en las medida de estos procesos industriales.
4. Se desarrollan modelos de predicción NIR con compensación de temperatura. Se obtienen dos tipos de modelos: local y global. Los errores de predicción obtenidos en ambos modelos, comprendidos entre 0,13-0,15 % Na, resultan muy similares a los errores del método de referencia (0,11 % Na) cuando se emplean en la validación muestras medidas a la temperatura perteneciente al rango en el que se han construido los modelos.

5. El modelo global resulta ser más ventajoso al poderse aplicar a muestras con temperatura desconocida, evitándose la construcción de nuevos modelos para cada temperatura. Se obtiene un ajuste del 89 %, con un error de predicción de 0,14 % Na y una capacidad predictiva de 3.

IV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC (1990). Official method 950.46, moisture in meat, B. Air drying. In K. Helrich (Ed.), Official methods of analysis of the association of official analytical chemists (Vol. II, p. 931). Arlington: Association of Official Analytical Chemists Inc.

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(1), 63-69. doi: 10.1016/0308-8146(94)P4182-F

Arnau, J., Guerrero, L., Gou, P., & Monfort, J. M. (2001). Tecnología, microbiología y principales problemas tecnológicos del jamón curado. In S. Martin-Bejarano (Ed.). *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos* (Vol. 2, pp. 1177–1204). Caceres, Spain: Ediciones Martin & Macias.

Begley, T. H., Lanza, E., Norris, K. H., & Hruschka, W. R. (1984). Determination of sodium chloride in meat by near-infrared diffuse reflectance spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(5), 984-987. doi: 10.1021/jf00125a007.

Boadas, C., Gou, P., Valero, A. & Arnau, J. (2001). Changes in different zones of dry-cured ham during drying. Moisture and sodium chloride content. *Fleischwirtschaft*, 81(1), 91–93.

Büning-Pfaue, H. (2003). Analysis of water in food by near infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 82(1), 107-115. doi:10.1016/S0308-8146(02)00583-6.

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. doi:10.1016/j.foodchem.2011.04.073

Collell, C., Gou, P., Arnau, J., Muñoz, I., & Comaposada, J. (2012). NIR technology for on-line determination of superficial a w and moisture content during the drying process of fermented sausages. *Food chemistry*, 135(3), 1750-1755. doi:10.1016/j.foodchem.2012.06.036.

Conzen, J. P. (2006). Multivariate calibration, a practical guide for developing methods in the quantitative analytical chemistry. *Ettlingen, Germany: BrukerOptik GmbH*.

Cozzolino, D., Liu, L., Cynkar, W. U., Damberg, R. G., Janik, L., Colby, C. B., & Gishen, M. (2007). Effect of temperature variation on the visible and near infrared spectra of wine and the consequences on the partial least square calibrations developed to measure chemical composition. *Analytica chimica acta*, 588(2), 224-230. doi:10.1016/j.aca.2007.01.079.

Ellekjær, M. R., Hildrum, K. I., Næs, T., & Isaksson, T. (1993). Determination of the sodium chloride content of sausages by near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 1(1), 65-75.

Fernández-Cabanás, V. M., Garrido-Varo, A., Olmo, J. G., De Pedro, E. & Dardenne, P. (2007). Optimisation of the spectral pre-treatments used for Iberian pig fat NIR calibrations. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 87(1), 104-112. doi: 10.1016/j.chemolab.2006.10.005.

Fernández-Cabanás, V. M., Garrido-Varo, A., Pérez-Marín, D. & Dardenne, P. (2006). Evaluation of pretreatment strategies for near-infrared spectroscopy calibration development of unground and ground compound feedingstuffs. *Applied spectroscopy*, 60(1), 17-23.

Flores, M., Aristoy, M. C., Antequera, T., Barat, J. M., & Toldrá, F. (2009). Effect of prefreezing hams on endogenous enzyme activity during the processing of Iberian dry-cured hams. *Meat science*, 82(2), 241-246. doi:10.1016/j.meatsci.2009.01.017.

Florian, W., Wim, T.H.K. & Age, K.S., 1998. Influence of temperature on vibrational spectra and consequences for the predictive ability of multivariate models. *Analytical Chemistry* 70 (9), 1761–1767.

Gaitán-Jurado, A. J., Ortiz-Somovilla, V., España-España, F., Pérez-Aparicio, J., & De Pedro-Sanz, E. J. (2008). Quantitative analysis of pork dry-cured sausages to quality control by NIR spectroscopy. *Meat science*, 78(4), 391-399. doi:10.1016/j.meatsci.2007.07.005.

García-Rey, R. M., García-Olmo, J., De Pedro, E., Quiles-Zafra, R., & de Castro, M. L. (2005). Prediction of texture and colour of dry-cured ham by visible and near infrared spectroscopy using a fiber optic probe. *Meat science*, 70(2), 357-363. doi:10.1016/j.meatsci.2005.02.001.

Gou, P., Santos-Garces, 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. doi:10.1016/j.meatsci.2005.02.001.

- Hageman, J. A., Westerhuis, J. A. & Smilde, A. K. (2005). Temperature robust multivariate calibration: An overview of methods for dealing with temperature influences on near infrared spectra. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 13, 53–62.
- Hansen, W. G., Wiedemann, S. C. C., Sneider, M., & Wortel, V. A. L. (2000). Tolerance of near infrared calibrations to temperature variations; a practical evaluation. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 8(2), 125-132.
- Hersleth, M., Lengard, V., Verbeke, W., Guerrero, L. & Næs, T. (2011). Consumers' acceptance of innovations in dry-cured ham: Impact of reduced salt content, prolonged aging time and new origin. *Food Quality and Preference*, 22(1), 31–41. doi:10.1016/j.foodqual.2010.07.002.
- Hildrum, K. I., Nilsen, B. N., Westad, F., & Wahlgren, N. M. (2004). In-line analysis of ground beef using a diode array near infrared instrument on a conveyor belt. *Journal of near infrared spectroscopy*, 12(6), 367-376.
- Huang, H., Yu, H., Xu, H., & Ying, Y. (2008). Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. *Journal of Food Engineering*, 87(3), 303-313. doi:10.1016/j.jfoodeng.2007.12.022.
- Monin, G. (1998). Recent methods for predicting quality of whole meat. *Meat Science*, 49 (Suppl. 1), S231–S243.
- Naes, T., Isaksson, T., Fearn, T., Davies, A. (2002). User-friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification, NIR Publications, Chichester, UK.
- Ortiz, M. C., Sarabia, L., García-Rey, R., & de Castro, M. D. L. (2006). Sensitivity and specificity of PLS-class modelling for five sensory characteristics of dry-cured ham using visible and near infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 558(1), 125-131. doi:10.1016/j.aca.2005.11.038.

Otal, E. H., Iñón, F. A., & Andrade, F. J. (2003). Monitoring the temperature of dilute aqueous solutions using near-infrared water absorption. *Applied spectroscopy*, 57(6), 661-666.

Pérez-Marín, Garrido-Varo, Guerrero. (2007). Non-linear regression methods in NIRS quantitative analysis. *Talanta* 72, 28-42. doi:10.1016/j.talanta.2006.10.036.

Pojic M., Mastilovic J. and Majcen N. (2012). Robustness of the near spectroscopy method determines using univariate and multivariate approach. *Food chemistry* 134, 1699-1705. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.03.

Prevolnik, M., Candek-Potokar, M., & Skorjanc, D. (2004). Ability of NIR spectroscopy to predict meat chemical composition and quality_a review. *Czech Journal of Animal Science-UZPI (Czech Republic)*.

Prevolnik, M., Čandek-Potokar, M., & Škorjanc, D. (2010). Predicting pork water-holding capacity with NIR spectroscopy in relation to different reference methods. *Journal of Food Engineering*, 98(3), 347-352. doi:10.1016/j.jfoodeng.2009.11.022.

Prevolnik, M., Škrlep, M., Janeš, L., Velikonja-Bolta, Š., Škorjanc, D., & 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. doi:10.1016/j.meatsci.2011.01.007.

Prevolnik, M., Škrlep, M., Škorjanc, D., & Čandek-Potokar, M. (2010). Application of near infrared spectroscopy to predict chemical composition of meat and meat products. *Tehnologija mesa*, 133-142.

Prieto, N., Roehe, R., Lavín, P., Batten, G., & Andrés, S. (2009). Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review. *Meat Science*, 83(2), 175-186. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.04.016.

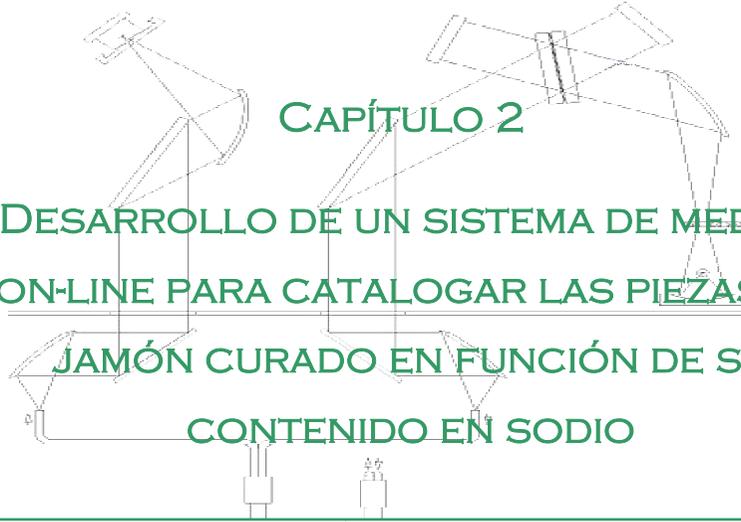
- Resano, H., Sanjuán, A. I., Cilla, I., Roncalés, P. & Albisu, L. M. (2010). Sensory attributes that drive consumer acceptability of dry-cured ham and convergence with trained sensory data. *Meat Science*, 84(3), 344–351. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.08.052.
- Shackelford, Wheeler and Koohmaraie (2004). On-line classification of US Select beef carcasses for longissimus tenderness using visible and near-infrared reflectance spectroscopy. *Meat Science*, 69(3), 409-415. doi: 10.1016/j.meatsci.2004.08.011.
- Shenk, J. S., & Westerhaus, M. O. (1996). Calibration the ISI way. Near infrared spectroscopy: The future waves, 198-202.
- Shenk, J. S., Workman, J. J., & Westerhaus, M. O. (2008). Application of NIR spectroscopy to agricultural products. Practical Spectroscopy Series, 35, 347-386.
- Shenk, J.S. & Westerhaus, M.O. (1995) Analysis of Agriculture and Food Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. NIR Systems, Monograph.
- Tøgersen, G., Arnesen, J. F., Nilsen, B. N., & Hildrum, K. I. (2003). On-line prediction of chemical composition of semi-frozen ground beef by non-invasive NIR spectroscopy. *Meat Science*, 63(4), 515-523. doi:10.1016/S0309-1740(98)00106-5.
- Tøgersen, G., Isaksson, T., Nilsen, B. N., Bakker, E. A., & Hildrum, K. I. (1999). On-line NIR analysis of fat, water and protein in industrial scale ground meat batches. *Meat Science*, 51(1), 97-102.
- Ventanas, J., Ruiz, J., & Córdoba, J. J. (2001). El jamón curado de cerdo ibérico: descripción del proceso tradicional de elaboración. *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos*, 2, 1221-1264.

Williams, P. (2008). Sampling, sample preparation and sample selection. In D. A. Burns & E. W. Ciurczak (Eds.), *Handbook of near-infrared analysis*, 268–295.

Xie, L., Ye, X., Liu, D., & Ying, Y. (2011). Prediction of titratable acidity, malic acid, and citric acid in bayberry fruit by near-infrared spectroscopy. *Food Research International*, *44*(7), 2198-2204. doi:10.1016/j.foodres.2010.11.024.

Yao, Y., Chen, H., Xie, L., & Rao, X. (2013). Assessing the temperature influence on the soluble solids content of watermelon juice as measured by visible and near-infrared spectroscopy and chemometrics. *Journal of Food Engineering*, *119*(1), 22-27. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.04.033.

Zhang, X.D., Chang, M., Xing, L.J. & Hu, J.H., 2010. Influence and correction of temperature on optical measurement for fat and protein contents in a complex food model system. *Infrared Physics and Technology* *53*(3), 177–181. doi:10.1117/12.841075.



CAPÍTULO 2

DESARROLLO DE UN SISTEMA DE MEDIDA ON-LINE PARA CATALOGAR LAS PIEZAS DE JAMÓN CURADO EN FUNCIÓN DE SU CONTENIDO EN SODIO

CONTENIDO

1. ANTECEDENTES	137
2. EXPERIMENTACIÓN	139
2.1 Selección de la zona más representativa de la pieza entera de jamón curado para la medida del parámetro de sodio	139
2.1.1 <i>Diseño experimental</i>	139
2.1.2 <i>Análisis de referencia</i>	140
2.1.3 <i>Análisis estadístico para medidas de muestras emparejadas</i>	140
2.2 Calibración on-line del parámetro sodio en piezas enteras de jamón curado	141
2.2.1 <i>Diseño experimental</i>	141
2.2.2 <i>Análisis de referencia</i>	142
2.2.3 <i>Adquisición de espectros</i>	142
2.2.4 <i>Análisis quimiométrico: Modelos de predicción NIR</i>	143
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	144
3.1 Selección de la zona adecuada para la medida de sodio en la pieza entera de jamón curado	144
3.1.1 <i>Búsqueda de la zona más representativa del contenido de sodio de la pieza</i>	144
3.1.2 <i>Elección de la zona más salada y representativa de la parte elegida</i>	147

3.2 Calibración del parámetro sodio en piezas enteras de jamón curado	149
3.2.1 <i>Análisis de referencia y espectroscópico</i>	150
3.2.2 <i>Resultados de calibración NIR</i>	152
4. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO	157
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	158

1. ANTECEDENTES

La mayoría de las actividades rutinarias en la calidad de los alimentos se basan en el éxito de la realización de tareas de reconocimiento de patrones basados en el desarrollo de algoritmos y metodologías o dispositivos para su aplicación informática, con el objetivo final de reducir el tiempo y los costes de dichas actividades (Ortiz, Sarabia, García-Rey & de Castro, 2006).

El desarrollo de métodos de selección informatizados para una clasificación rápida de la carne y productos cárnicos procesados, en función de su calidad y del contenido en determinados parámetros nutricionales, está muy demandado en este tipo de industrias.

Debido a la expansión del mercado de elaboración de jamón curado se necesitan tecnologías no invasivas, eficientes y objetivas para la evaluación de la calidad del jamón. Otorgar categoría de calidad al jamón se realiza generalmente de manera objetiva por un inspector de calidad basándose en normas de clasificación (por ejemplo, NPB, 1999). En la práctica, normalmente se evalúa de forma subjetiva por personal experimentado o mediante análisis químicos, sin embargo, ambos métodos son lentos y el segundo caso implica la destrucción de la muestra, por lo tanto, inadecuados para un entorno de producción de procesamiento de ritmo rápido (ElMasry, Iqbal, Sun, Allen & Ward, 2011).

Por todo ello, proponer un método para la obtención de un modelo de clasificación cualificado que permita tomar decisiones rápidas y precisas en la propia línea de producción, es de gran interés para la industria de jamón curado.

Con el objeto de mejorar la calidad del producto, se han hecho grandes esfuerzos para producir jamones curados con una composición homogénea en sal, clasificando los jamones crudos en grupos más homogéneos y optimizando los

procesos de secado para cada grupo. Sin embargo, todavía hay una gran variación dentro de los grupos (Gou et al., 2013).

Los niveles de sal en el jamón curado varían considerablemente, desde un 4 a un 10 % según Arnau, Guerrero, Casademont y Gou (1995) dentro del mismo músculo y entre los diferentes músculos de una misma pieza, dependiendo de su localización, veteado, o permeabilidad del agua y sal a través de la capa o capas que cubren al musculo, entre otros factores (Garrido-Novell, Garrido-Varo, Pérez-Marín, Guerrero-Ginel & Kim, 2015). Esta distribución de sal, e incluso la diferencia de contenido entre jamones, presenta un inconveniente importante cuando el objetivo es ofrecer a los consumidores un producto de composición conocida en todos aquellos parámetros que están relacionados con la salud. Una vez asumida la heterogeneidad que puede presentar el jamón curado, la aportación de información nutricional del producto final, da la posibilidad al consumidor de elegir según sus expectativas. Este conocimiento al menos en lo relacionado con el contenido en sal, puede llevarse a cabo mediante la tecnología NIRS.

Una clasificación previa de las piezas enteras en función de su contenido en sal, permitirá etiquetar cada jamón con una información extra, muy importante, del contenido máximo de sal que pueda contener. En este caso, si bien la tecnología NIRS presenta muchas ventajas para llevar a cabo este tipo de determinaciones (Prevolnik et al., 2011; Collell, Gou, Arnau & Comaposada, 2011), también, se debe tener en cuenta la limitación de la misma en muestras que presentan una elevada heterogeneidad. Cuando se llevan a cabo medidas NIR en reflectancia, la energía puede penetrar varios milímetros en la muestra, pero la señal medida representará principalmente la superficie. Por lo tanto, la estimación de la composición media de un producto depende de la homogeneidad de la muestra tomada, incluida la superficie de la misma (Gou et al., 2013). Dadas las

dificultades para hacer un estudio completo de toda la pieza, es mucho más recomendable determinar una zona de máximo contenido en sal para desarrollar la calibración, lo que permitirá una información extrapolable al contenido en sal de otras partes de la pieza de jamón.

Nuestro estudio tiene como objetivo demostrar que el jamón curado se puede clasificar en función de su contenido de sal, en la misma línea de producción, en base a la información espectral obtenida de la superficie de cada muestra intacta, mediante una sonda de medida remota con un equipo NIR y habiendo desarrollado la calibración correspondiente.

2. EXPERIMENTACIÓN

La metodología de trabajo ha consistido en:

- ✓ Estudiar el contenido de sal de las diferentes partes de la pieza entera de jamón curado para seleccionar la zona más adecuada para la medida NIR.
- ✓ Desarrollar modelos de calibración para la determinación del parámetro sodio mediante la tecnología NIR on-line.

2.1 Selección de la zona más representativa de la pieza entera de jamón curado para la medida del parámetro de sodio

2.1.1 Diseño experimental

Para llevar a cabo el estudio, se tomaron treinta y tres jamones magros de la misma procedencia, se deshuesaron, se descortezaron y se dividieron en 3 partes, punta, maza y codillo, para la determinación del contenido en sodio. Se analizaron los resultados buscando la zona de la pieza que presentaba mayor repetitividad

en la medida de sodio y también considerando que pudiera presentar menor dificultad para la realización de la medida con la sonda del equipo NIR.

Por otro lado y con el fin de simplificar el número de medidas, se buscó aquella zona más relevante por su alto nivel en sodio, todas las demás partes tendrían un contenido inferior, para llevar a cabo la clasificación de los jamones en función de dicho contenido. Para ello, se realizó un estudio sobre 6 jamones del contenido de sodio de dos partes contiguas en la pieza de jamón, punta y babilla.

2.1.2 Análisis de referencia

Las tres partes en las que se dividió cada pieza se trituraron por separado y se llevó a cabo la digestión ácida de cada muestra seguida de la determinación del contenido de sodio (ver capítulo 1). Los resultados obtenidos, promedio de las determinaciones, se expresaron en g sodio/100 g de materia húmeda.

2.1.3 Análisis estadístico para medidas de muestras emparejadas

Los resultados obtenidos de las determinaciones de sodio se analizaron estadísticamente aplicando la prueba t-Student para medidas de muestras emparejadas, con el objetivo de estudiar si aparecían diferencias significativas en el contenido de sodio entre las partes que conforman la pieza y de este modo, seleccionar aquella cuyo contenido fuera más repetitivo entre los jamones incluidos en el estudio.

La prueba t-Student contrasta si las diferencias numéricas obtenidas al comparar dos poblaciones son lo suficientemente grandes como para que su única causa sea atribuible al azar. En el caso que nos ocupa, donde se relaciona el contenido de sodio entre las diferentes partes de la pieza de jamón curado, cada parte constituye un grupo de muestras y al comparar entre grupos, estas muestras

resultan ser apareadas, donde para cada observación en un grupo tenemos una observación asociada en el segundo grupo. Si las diferencias existentes entre las observaciones asociadas entre dos grupos siguen una distribución aproximadamente normal, estas diferencias deben ser aproximadamente normales de media cero. Si al calcular la media de las diferencias, el valor obtenido en la muestra no es consistente con una posible media de cero, se rechaza la hipótesis nula y se determina que entre los grupos las diferencias no son aleatorias sino estadísticamente significativas.

Esta prueba se utilizó en dos ocasiones a lo largo del estudio. En un primer lugar, se disponía de tres grupos de muestras, punta, maza y codillo, que constituían tres conjuntos de muestras apareadas. En segundo lugar, los grupos estaban formados por las partes de babilla, punta y la zona intermedia entre ambas partes.

2.2 Calibración on-line del parámetro sodio en piezas enteras de jamón curado

Una vez seleccionada la zona donde se iba a llevar a cabo la medida espectral, se procedió al desarrollo de las calibraciones. Los jamones empleados en este estudio procedían de la fábrica de CAMPOFRÍO en Torrijos (Toledo).

2.2.1 Diseño experimental

Para la obtención de la calibración del parámetro sodio sobre piezas enteras de jamón curado, se llevaron a cabo tres desarrollos de modelos de predicción, en función del grosor de la muestra tomada para el análisis por vía húmeda.

De cada una de las piezas de jamón se cortó un trozo de un grosor determinado y se llevó a cabo la medida espectral, a continuación estas mismas muestras se trituraron y homogenizaron para la determinación del contenido de sodio por vía

húmeda. Una vez realizada la medida espectral y analítica de cada una de las muestras, se procedió a desarrollar los modelos de predicción para el parámetro sodio.

La toma espectral se llevó a cabo en una sala independiente acondicionada en temperatura y humedad para asemejarla a la línea de deshuesado de la empresa.

2.2.2 Análisis de referencia

Para los análisis de referencia se siguió el mismo procedimiento que el empleado en el primer capítulo, digestión ácida de la muestra seguida de la determinación del contenido de sodio mediante ICP-AES. Los resultados obtenidos, promedio de las determinaciones, se expresaron en g sodio/100 g de materia húmeda.

La toma de muestra para la primera calibración consistió en un trozo de aproximadamente 5 cm de grosor, cuya superficie coincide con la zona irradiada con el equipo NIR. En la segunda calibración, se ajustó más la zona que se iba a analizar por vía húmeda, cortando trozos de 2 cm de grosor. En el último estudio, únicamente se cogió la muestra de carne que penetra la radiación incidente, aproximadamente 3-5 mm. En todos los casos, se calcularon los errores estándar del método de referencia (SEL).

2.2.3 Adquisición de espectros

Las medidas se realizaron por interactancia-reflectancia con el espectrómetro NIR con transformada de Fourier modelo Matrix-F de Emisión Bruker Optik, empleando una sonda de emisión Q-412/AF de medición remota de la misma marca. La sonda se colocó en un soporte, ajustando la altura de la bandeja a una longitud de camino óptico constante de 10 cm, realizándose los espectros de una porción de superficie circular de 10 mm de diámetro.

Se obtuvieron cuatro espectros para cada una de las muestra, dos de ellos se tomaron a 16 barridos y otros dos a 8, ambos realizados con una resolución de 16 cm^{-1} . El tiempo de adquisición para cada par de espectros fue de 2,47 y 5,01 s, respectivamente.

2.2.4 Análisis quimiométrico: Modelos de predicción NIR

A partir de los datos de referencia y la información espectral se realizó el análisis quimiométrico de los datos mediante análisis por mínimos cuadrados (PLSR), utilizando dos software quimiométricos OPUS/QUANT™ versión 7.0 y The Unscrambler 10.2.

Las variables estudiadas en la optimización de los resultados fueron el tipo de pretratamiento aplicado a la señal espectral y el rango espectral de calibración. De forma simultánea se llevó a cabo un procedimiento de detección y eliminación de outliers basado en la medida de la distancia de Mahalanobis y del residual espectral. Se eliminaron las muestras alejadas del conjunto de calibración y que además sobrepasaban los límites establecidos.

Una primera aproximación de la capacidad de predicción de los métodos NIR desarrollados se evaluó a partir de la medida del error obtenido en validación cruzada (RMSECV), del coeficiente de correlación (R^2_{cv}) determinado a partir de los valores de referencia (valor real) frente a los valores obtenidos por los modelos NIR desarrollados (valor predicho) y de la capacidad predictiva (RPD). Para concluir si los modelos desarrollados eran adecuados, se utilizó el valor del error del método de referencia seguido en la determinación del parámetro sodio en el laboratorio (SEL).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se presentan los resultados obtenidos del estudio llevado a cabo para seleccionar la zona de medida que aporte la mejor información para la clasificación de las piezas en función de su contenido en sodio y donde se va a realizar la medida espectral para la construcción de la calibración de dicho parámetro.

3.1 Selección de la zona adecuada para la medida de sodio en la pieza entera de jamón curado

3.1.1 Búsqueda de la zona más representativa del contenido de sodio de la pieza

En el primer estudio, sobre 33 jamones, se buscó la parte de la pieza de jamón curado que represente mejor el contenido global de sal. Con los resultados obtenidos para las tres partes (punta, maza y codillo) en las que se dividió el jamón (Figura 1) se observa, en principio, que no hay un patrón de comportamiento que nos indique una relación en cuanto al contenido de sodio entre las partes de una misma pieza al compararlas con el resto de los jamones estudiados (Tabla 1).

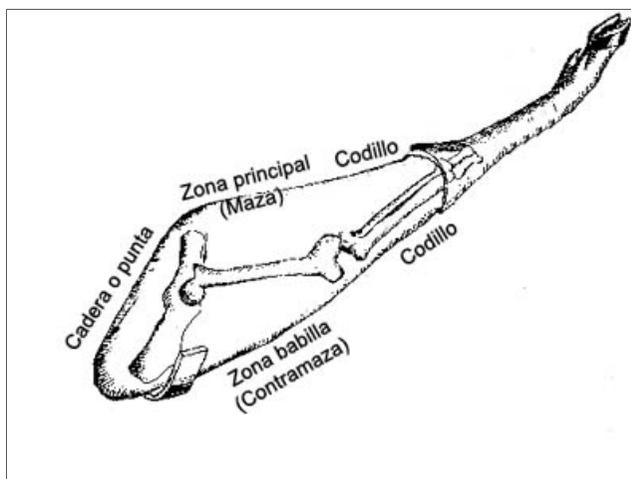


Figura 1. Partes de la pata de jamón

Los jamones empleados en el estudio tenían la misma procedencia y habían sido tratados en condiciones similares y sometidos al mismo proceso de curación. Por lo tanto, estas diferencias en el contenido de sodio entre los jamones se deben a las características implícitas de cada pieza, peso y forma, contenido graso, veteado, que afectan directamente a la difusión y distribución de la sal.

Tabla 1. Contenido de sodio (%) de tres partes de la pieza (punta, maza y codillo) de 33 jamones

Parte de la pieza	Jamones (% sodio)										
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11
Punta (P)	2,57	1,79	1,90	1,98	2,46	2,56	1,68	1,73	1,32	1,54	1,35
Maza (Z)	2,59	1,88	2,52	1,90	2,33	1,84	1,64	1,84	1,45	1,65	1,38
Codillo (C)	2,49	2,03	1,65	2,00	2,52	2,72	1,72	1,83	1,57	1,69	1,46
Parte de la pieza	Jamones (% sodio)										
	J12	J13	J14	J15	J16	J17	J18	J19	J20	J21	J22
Punta (P)	1,43	1,56	1,45	1,61	1,52	1,67	1,51	1,89	2,02	1,68	1,87
Maza (Z)	1,55	1,40	1,41	1,66	1,55	1,66	1,58	1,96	2,09	1,60	1,95
Codillo (C)	1,73	1,52	1,58	1,75	1,66	1,74	1,55	2,12	2,07	1,66	2,06
Parte de la pieza	Jamones (% sodio)										
	J23	J24	J25	J26	J27	J28	J29	J30	J31	J32	J33
Punta (P)	1,64	1,42	2,07	2,06	1,87	2,04	2,26	1,66	1,53	1,50	1,55
Maza (Z)	1,39	1,44	2,14	1,92	1,62	2,10	2,18	1,42	1,62	1,18	1,29
Codillo (C)	1,54	1,33	2,02	2,12	2,03	2,53	2,03	1,71	1,21	1,47	1,22

Debido a la elevada heterogeneidad entre la población de jamones estudiada y con el objetivo de encontrar la parte del jamón, que en relación con las otras partes, aportara un contenido de sodio que se repitiera entre los diferentes jamones, se llevó a cabo un estudio estadístico mediante la prueba t-Student para

medidas de muestras emparejadas, comparando las diferentes partes dos a dos (Tabla 2).

Tabla 2. Prueba t-Student para medidas de muestras emparejadas entre las partes del jamón: punta, maza y codillo

Prueba t-Student para medias de dos muestras emparejadas	Prueba 1		Prueba 2		Prueba 3	
	P	Z	P	C	Z	C
Media	1,779	1,749	1,779	1,828	1,749	1,828
Varianza	0,112	0,123	0,112	0,140	0,123	0,140
Observaciones	33	33	33	33	33	33
Coefficiente de correlación de Pearson	0,811		0,883		0,718	
Diferencia hipotética de las medias	0		0		0	
Grados de libertad	32		32		32	
Estadístico t	0,802		-1,615		-1,658	
P(T<=t) dos colas	0,428		0,116		0,107	
Valor crítico de t (dos colas)	2,037					

En todos los casos, la t-estadística tiene un valor menor a su valor crítico en la distribución de dos colas, por lo tanto, no se encuentran diferencias significativas entre ellas.

Para llevar a cabo el desarrollo de la calibración, se seleccionó la parte de punta (Figura 2), por dos motivos principalmente; por su mayor accesibilidad para realizar la medida NIR y para intentar aprovechar el resto de la pieza, debido a que utilizando esta parte del jamón el resto de la pieza podía continuar con el proceso de loncheado y de esta forma, se evitaba la pérdida íntegra de los jamones implicados en el estudio.



Figura 2. Jamón curado deshuesado dividido en dos partes: Punta y resto de la pieza

3.1.2 Selección de la zona más salada y representativa de la parte elegida

Como el objetivo final de este estudio es llevar a cabo una clasificación de los jamones en función del contenido en sodio, se consideró como más relevante aquella zona que tuviera el mayor contenido de sodio. Para ello, se planteó un *segundo estudio*, en el que se buscó la zona más salada entre dos partes contiguas en el jamón, la zona de punta y la babilla (Figura 3), y además, ambas cumplían la condición de zona accesible para realizar la toma espectral con la sonda.

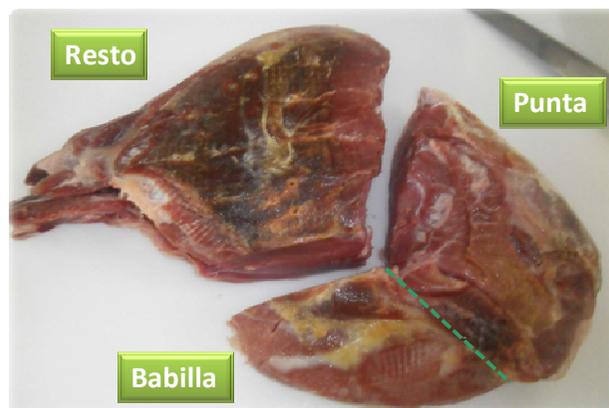


Figura 3. Jamón curado deshuesado dividido en dos partes: Punta-babilla y resto de la pieza

Se tomaron 6 jamones, ya deshuesados y sin corteza, y se analizaron 3 zonas contiguas: punta, babilla y zona intermedia entre punta y babilla (Tabla 3).

Tabla 3. Contenido de sodio (%) de tres zonas contiguas (punta, babilla y zona intermedia) de 6 jamones

Parte de la pieza	Jamones (% sodio)					
	J1	J2	J3	J4	J5	J6
Punta (P)	1,84	2,54	2,24	1,87	1,57	1,52
Babilla (B)	2,23	2,81	2,39	1,84	1,70	1,76
Zona intermedia (BP)	2,16	2,84	2,15	1,38	1,59	1,87

Los resultados obtenidos indican que la zona buscada es la zona del músculo de babilla, ya que es la de mayor contenido de sodio. De los 6 jamones incluidos en el estudio solo se aprecia en el jamón J4 un valor de sodio de la zona de babilla (1,84 % Na) inferior al obtenido en la zona de punta (1,87 % Na), pero es prácticamente inapreciable la diferencia entre ambos.

Se aplicó, de nuevo, la prueba t-Student para muestras apareadas (Tabla 4), y se obtienen diferencias significativas entre las partes de punta y babilla, siendo la t estadística mayor a su valor crítico, mientras que en las pruebas que comparan la zona intermedia (BP) con punta y babilla por separado, no se detectan estas diferencias.

Tabla 4. Prueba t-Student para medidas de muestras emparejadas entre las partes del jamón: punta, babilla y zona intermedia

Prueba t-Student para medias de dos muestras emparejadas	Prueba 1		Prueba 2		Prueba 3	
	B	P	B	BP	BP	P
Media	2,119	1,929	2,119	1,998	1,998	1,929
Varianza	0,189	0,156	0,189	0,266	0,266	0,156
Observaciones	6	6	6	6	6	6
Coefficiente de correlación de Pearson	0,944		0,919		0,768	
Diferencia hipotética de las medias	0		0		0	
Grados de libertad	5		5		5	
Estadístico t	3,235		1,440		0,509	
P(T<=t) dos colas	0,023		0,209		0,632	
Valor crítico de t (dos colas)	2,571					

Una vez seleccionada la babilla como la zona más adecuada, las siguientes muestras empleadas para el desarrollo de las calibraciones se presentan como en la Figura 4, donde únicamente se cortó el musculo de babilla, recuperando el resto del jamón para su aprovechamiento en la empresa.



Figura 4. Zona de babilla del jamón curado deshuesado

3.2 Calibración on-line del parámetro sodio en piezas enteras de jamón curado

Seleccionada la zona donde se va a llevar a cabo la medida espectral, se procedió al desarrollo de las calibraciones. Para lo cual se emplearon un total de 354 muestras, de las cuales se recogió la medida espectral y seguidamente se analizaron por vía húmeda, determinando el contenido de sodio de la zona irradiada. Con esta información se desarrollaron los modelos de predicción.

Como se ha comentado anteriormente, se llevaron a cabo tres estudios de calibración, la diferencia entre ellos radicó en la toma de muestra para llevar a cabo la determinación analítica de sodio. A medida que la muestra se ajusta más a la zona irradiada por la sonda, tanto en anchura como en profundidad, son mejores los modelos obtenidos.

3.2.1 Análisis de referencia y espectroscópico

El contenido de sodio de las muestras incluidas en el estudio varía en función de la zona que se emplea para el análisis vía húmeda. Las muestras de la primera calibración están comprendidas dentro del rango (0,90-2,84 % Na), para la segunda calibración (1,18-2,82 % Na) y para la tercera calibración (1,50-2,60 % Na). Cuanto más pequeña es la zona que se analiza, más estrecho es el rango en el que se mueven las correspondientes muestras.

En la Tabla 5 se presentan los estadísticos descriptivos, promedio, desviación estándar (SD) y coeficiente de variación (CV), del conjunto de muestras empleadas en la calibración, están divididas en tres grupos, correspondientes a los tres estudios de calibración realizados sobre diferentes muestras. La distribución del contenido de sodio en cada conjunto de muestras se presenta en la Figura 5.

Tabla 5. Resumen estadístico de los análisis químicos en las 3 calibraciones

Parámetro	Estudio de calibración	Nº muestras	Promedio	Rango	SD ^a	CV% ^b
Sodio (%)	1	264	1,88	0,90-2,84	0,40	21,28
	2	105	1,83	1,18-2,82	0,34	18,60
	3	42	2,08	1,50-2,60	0,32	15,38

^aSD, desviación estándar.

^bCV, coeficiente de variación (SD * 100/promedio).

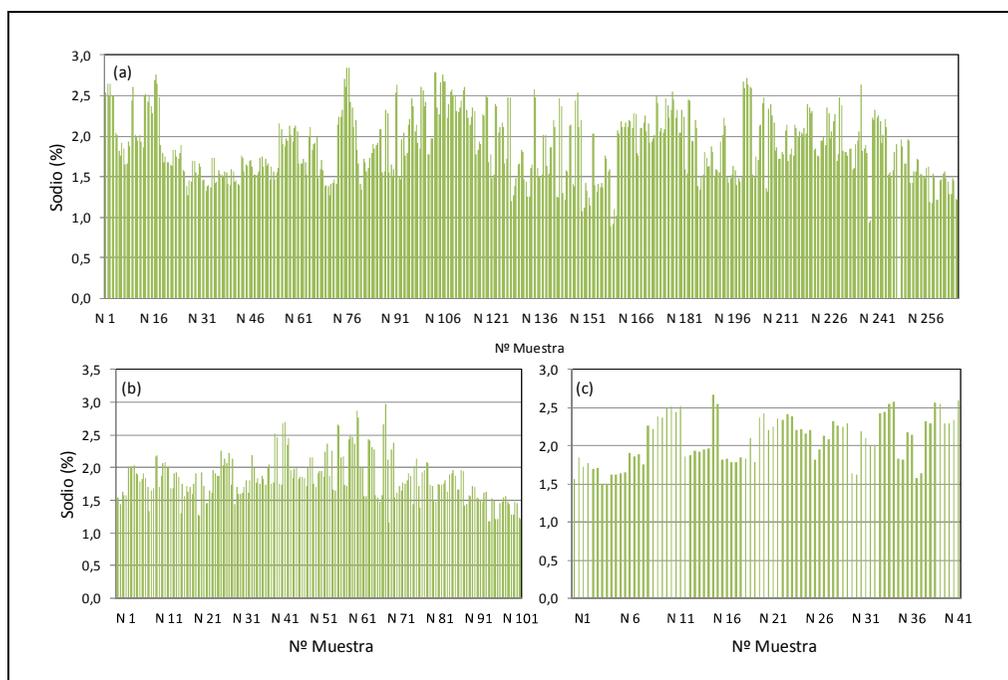


Figura 5. Distribución del contenido en sodio de las muestras analizadas: (a) Estudio de calibración 1, (b) Calibración 2 y (c) Calibración 3

Los espectros obtenidos sobre la zona de babilla de las piezas de jamón curado se muestran en la Figura 6.

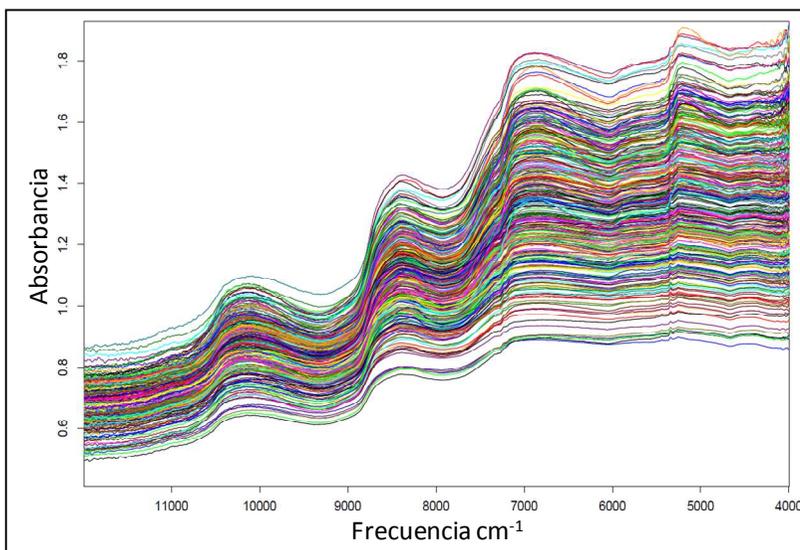


Figura 6. Espectros NIR de 354 muestras de la zona de babilla de jamón curado, obtenidos por reflexión con una sonda de fibra óptica de medición remota

3.2.2 Resultados de calibración NIR

Los modelos de predicción obtenidos para las tres calibraciones llevadas a cabo se muestran en la Tabla 6 donde se presentan los valores de los coeficientes de determinación del ajuste, errores de predicción y capacidad predictiva, obtenidos tanto en calibración como en la validación cruzada. También se muestran los valores de los errores del método de referencia obtenidos en cada estudio, con el objetivo de comparar con los errores de predicción de cada modelo. Para la comparación de los tres modelos, se utilizan los datos obtenidos en validación cruzada, ya que representa una validación interna de la propia calibración.

Tabla 6. Resultados obtenidos en calibración y validación interna

Parámetros	Modelo		
	1	2	3
Nº muestras calibración	259	96	40
Rango de frecuencias (cm-1)	9.404-6.094 4.605-4.243	9.404-7.498 6.102-5.346	7.506-4.598
Pre-Procesamiento	1ª d.+ SNV*	1ª d.+ SNV*	1ª d.+ SNV*
Factores PLS	7	6	10
	Calibración		
R ²	53,05	85,39	99,2
RMSEE	0,27	0,12	0,03
	Validación cruzada		
R ² _{cv}	41,16	79,51	86,97
RMSECV	0,30	0,14	0,11
RPD	1,30	2,21	2,77
	Método de Referencia		
SEL	0,09	0,13	0,11

* Espectros promedio

En el *primer modelo*, se empleó un conjunto de calibración de 259 muestras. Para la determinación analítica de sodio se tomó la zona de superficie irradiada con la sonda y con una profundidad de aproximadamente 4-6 cm. Los resultados obtenidos no indican un buen ajuste del modelo, obteniéndose un valor del coeficiente de determinación de la validación cruzada R²_{cv} inferior al 50 %, y un error de predicción de 0,30 % Na, que comparándolo con el valor del error del método de referencia de 0,09 % Na, resulta bastante superior.

En la Figura 7 (a) se muestran los valores predichos frente a los valores reales obtenidos mediante el método de referencia. La recta de regresión obtenida (color azul) advierte de la presencia de errores tanto sistemáticos como aleatorios. Estos últimos se corresponden con la dispersión de los datos alrededor de la recta, que son habituales en el desarrollo de modelos de predicción NIR por tratarse de métodos indirectos, ya que se asocia un valor analítico a un espectro tomado sobre una muestra que no conlleva ningún pretratamiento. En cuanto a los errores sistemáticos, la tendencia de la recta indica que en la metodología seguida se producen de dos tipos, constantes y proporcionales. Los errores constantes vienen determinados por la ordenada en el origen distinta de cero y los proporcionales por la pendiente distinta de 1. De tal manera, que a medida que nos aproximemos a estos valores, mejor será el ajuste y por tanto, la predicción de las muestras a través de los modelos desarrollados.

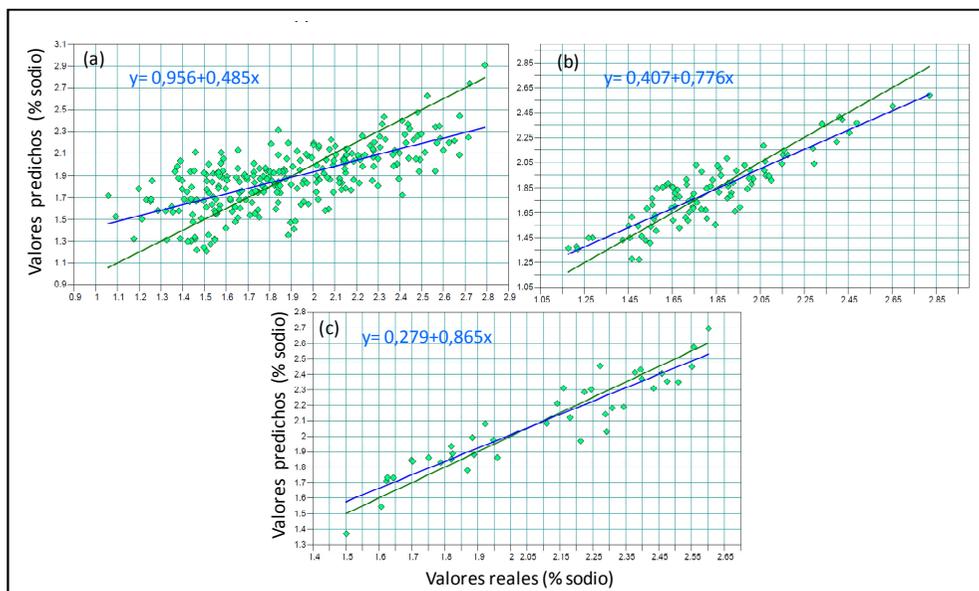


Figura 7. Gráfico de predicción NIR: Valores predichos frente a reales (% sodio), (a) 1º Modelo, (b) 2º Modelo y (c) 3º Modelo

Con el objetivo de detectar el motivo de la presencia de estos errores, se llevó a cabo una comparación entre las metodologías aplicadas en la obtención de los modelos de producto loncheado (Capítulo 1) y la empleada en este estudio. Se observa una diferencia significativa en la toma de muestra para la medida analítica, en ambos métodos se analizó vía húmeda la zona irradiada durante la medida espectral, pero mientras que en las lonchas las analíticas se llevaron a cabo sobre las seis primeras lonchas del envase, lo que supone una profundidad en el trozo que ha sido loncheado de unos 4 mm, en la pieza de jamón la medida se hizo sobre un trozo de jamón de aproximadamente 4-6 cm de grosor. El jamón curado es un producto que presenta una gran heterogeneidad y los niveles de sal varían considerablemente, como ya se ha indicado al inicio de este capítulo, entre un 4 y un 10 % entre los músculos de una misma pieza e incluso dentro del mismo músculo a través de la capa o capas que lo cubren. Por este motivo, al realizar la analítica en una muestra mayor a la zona donde se ha medido con la sonda NIR, aparecen las desviaciones en la predicción de las medidas.

En el intento de corregir estos errores se llevó a cabo el *segundo modelo*, empleando 105 muestras, en las cuales se tomó un trozo de 2 cm de espesor y una vez irradiada su superficie se procedió a realizar un corte en profundidad de dicha zona para realizar la analítica vía húmeda. El ajuste del modelo obtenido mejora considerablemente en este caso en el que se ha ajustado la determinación analítica a la zona de medida NIR, siendo R^2_{cv} del 80 %. Igualmente, el error de predicción coincide con el valor del error del método de referencia de 0,14 % Na.

Los resultados indican una leve disminución de los errores sistemáticos [Figura 7 (b)], ya que la línea de tendencia obtenida presenta menor inclinación con respecto a la línea ideal ($y = x$, color verde), obteniéndose una pendiente más próxima a la unidad, con un valor de 0,78 que difiere mucho del obtenido en el primer modelo con un valor de 0,49.

En el *tercer estudio de calibración*, se emplearon 40 muestras cuyo análisis vía húmeda se realizó sobre una porción más superficial de la zona de la muestra que había sido irradiada, aproximadamente 5 mm. El modelo así obtenido presenta el mejor ajuste, con un R^2_{cv} del 87 % y un error de predicción RMSECV de 0,11 % Na que coincide con el error del método de referencia. En este caso, la pendiente de la recta obtenida tiene un valor de 0,87 [Figura 7 (c)] y la ordenada presenta el menor valor comparado con los anteriores ajustes.

Al ceñirnos a una única zona de la pieza y ajustar el análisis a la zona superficial disminuye el rango del contenido de sodio y esto implica que cuanto menor es el rango del parámetro en estudio mayor es la precisión en la predicción, aunque se sacrifica la aplicabilidad del método debido al rango tan restrictivo. No obstante, la calibración desarrollada va a ser aplicada únicamente en la zona seleccionada de babilla que aporta el mayor contenido de sodio del jamón, y en base a este valor se llevará a cabo la clasificación de las piezas.

4. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO

1. Se estudia la distribución de sal (sodio) en las piezas de jamón curado, eligiendo la zona de babilla para llevar a cabo la medida espectroscópica y analítica en el desarrollo de la calibración con el equipo NIR on-line. La babilla por su accesibilidad y mayor contenido en sodio, se considera la parte más adecuada para la clasificación de las piezas en función de su contenido en dicho elemento.
2. Se corrobora que la medida NIR sobre la muestra de jamón curado, es capaz de predecir el contenido del parámetro sodio de la zona irradiada, teniendo en cuenta en la construcción del modelo la penetrabilidad de la radiación en la muestra.
3. Se desarrolla una metodología adecuada para el desarrollo del modelo que permita predecir el contenido de sodio de la zona de babilla. Los resultados obtenidos demuestran que la Tecnología NIR es una herramienta de gran utilidad para la clasificación de las piezas intactas de jamón curado en función del contenido de sodio, con una precisión similar a la del método de referencia del parámetro estudiado.

Para llevar a cabo la clasificación de las piezas en la línea de deshuesado es necesario reforzar la calibración construida siguiendo la metodología planteada en el estudio, ampliando el conjunto de muestras de calibración, para minimizar los errores del método y robustecer el modelo. Una vez puesto a punto el modelo de predicción, para la posterior implantación de la tecnología en la empresa será preciso realizar una validación en la propia línea, teniendo en cuenta las condiciones de medida tales como la temperatura de la sala y del producto, la adaptación de la línea y posición del equipo, así como la formación precisa del personal encargado de controlar la aplicación y su mantenimiento.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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(1), 63-69. doi:10.1016/0308-8146(94)P4182-F.

Cairós, C. (2009). Espectroscopia de imagen en el infrarrojo próximo. Caracterización instrumental y aplicación al análisis de productos sólidos (Tesis doctoral). Universidad Autónoma de Barcelona.

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. doi:10.1016/j.foodchem.2011.04.073.

ElMasry, G., Iqbal, A., Sun, D. W., Allen, P., & Ward, P. (2011). Quality classification of cooked, sliced turkey hams using NIR hyperspectral imaging system. *Journal of Food Engineering*, 103(3), 333-344. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.10.031.

Garrido-Novell, C., Garrido-Varo, A., Pérez-Marín, D., Guerrero-Ginel, J. E., & Kim, M. (2015). Quantification and spatial characterization of moisture and NaCl content of Iberian dry-cured ham slices using NIR hyperspectral imaging. *Journal of Food Engineering*, 153, 117-123. doi:10.1016/j.jfoodeng.2014.09.035.

Gou, P., Santos-Garces, 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. doi:10.1016 /j.meatsci.2013.05.013.

Ortiz, M. C., Sarabia, L., García-Rey, R., & de Castro, M. D. L. (2006). Sensitivity and specificity of PLS-class modelling for five sensory characteristics of dry-cured ham using visible and near infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 558(1), 125-131. doi:10.1016/j.aca.2005.11.038.

Prevolnik, M., Škrlep, M., Janeš, L., Velikonja-Bolta, Š., Škorjanc, D., & Candek-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. doi:10.1016/j.meatsci.2011.01.007.



CAPÍTULO 3

EVALUACIÓN DEL SEGUIMIENTO DEL PROCESO DE CURACIÓN DEL JAMÓN CON CONTENIDO REDUCIDO EN SODIO MEDIANTE TECNOLOGÍA

NIRS

CONTENIDO

1. ANTECEDENTES	165
2. EXPERIMENTACIÓN	173
2.1 Diseño experimental	173
2.2 Análisis de referencia	176
2.3 Adquisición de espectros	178
2.4 Análisis estadístico	178
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	182
3.1 Jamón magro en bandeja	182
3.1.1 <i>Estudio de la difusión de las sales empleadas en el proceso para la reducción del contenido de sodio en jamón curado</i>	182
3.1.2 <i>Control de otros parámetros implicados en el proceso de curación del jamón con reducción de sodio</i>	185
3.1.3 <i>Evaluación de los parámetros implicados en el proceso de reducción de sal mediante la tecnología NIRS</i>	191

3.2 Jamón graso en tina	201
3.2.1 <i>Estudio de la difusión de las sales empleadas en el proceso para la reducción del contenido de sodio en jamón curado</i>	201
3.2.2 <i>Control de otros parámetros implicados en el proceso de curación del jamón con reducción de sodio</i>	204
3. 2.3 <i>Evaluación de los parámetros implicados en el proceso de reducción de sal mediante la tecnología NIRS</i>	209
4. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO	219
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	220

1. ANTECEDENTES

Proceso de reducción de sal mediante sustitución parcial por otras sales

El sodio es un nutriente esencial para el ser humano, con importantes funciones en la regulación de líquido extracelular y el transporte activo de moléculas a través de membranas celulares. Se calcula que una persona adulta necesita una ingesta de 2,4 g de sodio diarios, nivel que se alcanza fácilmente en la dieta, normalmente en forma de cloruro sódico, a través de los alimentos o en la condimentación de los mismos. El sabor salado es uno de los sabores primarios para el ser humano. Sodio y litio son los dos únicos cationes con un sabor de componente principalmente salado. Potasio y calcio lo presentan también, pero otros sabores, definidos como “metálico” o “amargo”, lo suelen enmascarar. Sin embargo, no es únicamente su sabor salado lo que da importancia al sodio, sino también la capacidad potenciadora del sabor en otros ingredientes. Con esta finalidad se emplea, sobre todo, el cloruro sódico y el glutamato monosódico en los alimentos.

La sal común o cloruro de sodio (NaCl) se viene usando tradicionalmente en el procesado de muchos y muy diferentes alimentos debido a sus propiedades como conservante y potenciador del flavor, aportando sabor salado. El NaCl es un ingrediente esencial en productos cárnicos procesados, especialmente aquellos que son sometidos a un proceso de curación, contribuyendo a la capacidad de retención del agua, solubilización y extracción de las proteínas miofibrilares, mejorando notablemente las propiedades de unión de la grasa y el agua de los productos cárnicos (Ventanas & Andrés 2001), color, flavor y textura. Además, la sal contribuye a la estabilidad microbiana, al reducir la actividad del agua (a_w) que afecta significativamente la vida útil de los alimentos (Wirth, 1989, citado por Ellekjær, Hildrum, Næs & Isaksson, 1993; Martin, 2001, citado por Ripollés,

Campagnol, Armenteros, Aristoy & Toldrá, 2011). También interactúa con algunos de los componentes mayoritarios de los alimentos, interviniendo en las características de textura. La sal incrementa la hidratación de las proteínas y la capacidad de unión entre ellas mismas y entre estas y la grasa, estabilizando las emulsiones de carne y grasa. En la carne, una cantidad de sal añadida entre el 1,5 y el 2,5 % permite a las proteínas retener el agua, dando lugar a una mayor ternura y una menor sinéresis tras el tratamiento térmico.

Los microorganismos alterantes de olor, sabor, textura y apariencia de los alimentos también se ven afectados por la concentración de cloruro sódico.

La disponibilidad de agua en el alimento es un factor crítico en el crecimiento microbiano. El efecto conservador de la sal se basa en su capacidad para extraer por ósmosis el agua de las células, tanto del propio alimento como del microorganismo en sí. La sensibilidad de este último a la sal depende de muchos factores, como pH, temperatura, oxígeno, grasa y presencia de otros aditivos. Cuando los niveles de sal y/o sodio se reducen, habitualmente es necesaria la adición de otros conservantes para asegurar las técnicas de procesado y el mantenimiento del sabor. El control del crecimiento de patógenos en alimentación es esencial para la salud pública, especialmente si hablamos de poblaciones de riesgo, como niños, embarazadas, ancianos y/o personas inmunodeprimidas. De acuerdo con el Centro de control y prevención de enfermedades, se estima que 76 millones de personas sufren enfermedades transmitidas por alimentos cada año en EEUU, representando 325.000 casos de hospitalización y más de 5.000 muertos (<http://www.cdc.gov>, 2009).

Como contraposición a todas estas características beneficiosas, hoy en día, hay una clara evidencia de que el consumo de dietas con sal lleva asociado un importante riesgo cardiovascular, ya que el exceso en la ingesta de sodio influye directamente en la presión arterial de la población, por lo tanto esta ingesta

debería ser limitada con el objetivo de reducir el riesgo de enfermedades coronarias y accidentes cerebrovasculares tan habituales en nuestra sociedad (World Health Organization/Food and Agriculture Organisation [WHO/FAO], 2003; McCarty, 2004; Ruusunen & Puolanne, 2005). Por lo tanto, la limitación de la ingesta de sodio debería conseguirse reduciendo el contenido de sal (NaCl) en la dieta a no más de 5 g al día, pues las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (WHO), Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), The Food Standards Agency (FSA) en UK y The National Academy of Science en USA, ponen un límite máximo de consumo en 6 g diarios. Estas recomendaciones se hacen de forma general y especialmente a aquellos individuos con hipertensión y se recomienda dietas con bajo contenido en sodio del orden de 2 g (SACN, 2003; He & MacGregor, 2010; FSAI, 2011).

Actualmente, hay una tendencia hacia la reducción del contenido de sal en todos los productos elaborados y en nuestro caso concreto en los cárnicos (Desmond, 2006), con el fin de obtener alimentos más saludables sin que se alteren las características organolépticas propias de los mismos ni las condiciones relativas al crecimiento y control microbiano.

Diversos organismos, entre ellos la FSAI (Food Safety Authority of Ireland) y FSA, llevan desde principios del año 2003 tratando de lograr, junto con la industria alimentaria, reducciones graduales en el contenido de sal de los alimentos procesados y preparados. Los datos generados contribuyen a facilitar las recomendaciones sobre ingesta de sodio en la red de acción de reducción de sal de la WHO y la UE (WHO-EU salt action network).

En julio de 2012, la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN), junto con la Confederación Española de Detallistas de la Carne (CEDECARNE) y la Asociación de Fabricantes y Comercializadores de Aditivos y

Complementos Alimentarios (AFCA), llegan a un compromiso para la reducción de sal y grasa en los productos de carnicería-charcutería, como respuesta a la evidencia científica que avala la relación del consumo excesivo de estos dos nutrientes con la morbilidad y mortalidad por enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades crónicas. Dicho convenio se enmarca en las recomendaciones de reducción de nutrientes seleccionados que se impulsan desde la UE y la WHO.

El jamón curado es un producto con extraordinarias características sensoriales y nutricionales asociadas a la gastronomía. Es uno de los productos cárnicos curados más tradicionales en el área mediterránea, con enorme importancia económica en su sector. Sin embargo, su alto contenido en sodio hace que no sea un producto recomendado para los consumidores hipertensos. Por esta razón, es un desafío para la industria de productores de jamón reducir el contenido de cloruro de sodio (típicamente en torno al 5-6 %).

Esta reducción puede llevarse a cabo por dos vías. Por un lado, mediante la reducción del contenido global disminuyendo el tiempo en el periodo de salado, o adicionando menor cantidad de cloruro de sodio, y por otro lado, sustituyéndolo parcial o totalmente por otras sales como cloruro de potasio (KCl), cloruro de magnesio ($MgCl_2$) y cloruro de calcio ($CaCl_2$) (Blesa et al., 2008). El primer caso ha sido desarrollado por algunos productores españoles, aunque llegaron a la conclusión de que esta técnica implica importantes riesgos en la calidad del producto final, como es, una textura blanda. La mayoría de los problemas de textura en jamón curado están relacionados con tiempos cortos de procesado y bajos contenidos de sal (Harkouss et al., 2015). Además, se comprobó que era necesario aumentar la cantidad de agentes de curado para asegurar la estabilidad microbiológica. El segundo caso, ha sido recientemente propuesto por varios autores (Aliño, Grau, Toldrá, & Barat, 2010; Aliño, Grau, Fuentes & Barat, 2010; Ripollés et al., 2011; Armenteros, Aristoy, Barat & Toldrá, 2012).

El uso de mezclas de sales con bajo contenido en sodio implica cambios importantes en las etapas del proceso de curación del jamón (salado, postsalado y secado-maduración), debidos principalmente al diferente grado de penetración y de difusión de los cationes en el músculo y al retraso del proceso de disminución de la actividad del agua durante el postsalado, imprescindible para la siguiente etapa, como ocurre en los jamones preparados con calcio y magnesio (Blesa et al., 2008; Aliño, Grau, Fuentes et al., 2010; Aliño, Grau, Toldrá et al., 2010).

La sustitución parcial de NaCl por KCl parece ser la mejor alternativa para reducir el contenido de sodio en los productos cárnicos, de hecho el KCl es probablemente la sal que se emplea más frecuentemente para sustituir a la sal común (NaCl) en el procesado de alimentos (Desmond, 2006). Ambas sales tienen propiedades muy similares, pero la ingesta de potasio no está ligada al desarrollo de hipertensión ni a enfermedades cardiovasculares (Buemi et al., 2002; Geleijnse, Witteman, Bak, Den Breijen & Grobbee, 2007; Kimura et al., 2004, citados por Armenteros, Aristoy, Barat & Toldrá, 2009b), aunque su empleo es limitado debido al sabor amargo y astringente (Reddy & Marth, 1991). Además, se debe llegar a un compromiso en esta sustitución debido a que los jamones curados con sustitución parcial del cloruro sódico por cloruro potásico retienen mayores cantidades de sal, por lo que la curación del producto resulta ser más rápida de lo habitual (Aliño, Grau, Fuentes et al., 2010).

El aumento de la ingesta de sodio se asocia con un aumento de la presión arterial, mientras que la ingesta de potasio y calcio puede disminuirla ligeramente (Geleijnse, Witteman, Bak, Den Breijen & Grobbee, 1994, citado por Aliño, Grau, Toldrá et al., 2010) e incluso la ingesta de magnesio está inversamente asociada a este parámetro (Mizushima, Cappuccio, Nichols & Elliott, 1998; Jee et al, 2002, citados por Aliño, Grau, Toldrá et al., 2010). Varios estudios han demostrado que un aumento de potasio en la dieta puede ejercer un efecto protector en

individuos que sufren hipertensión provocada por la ingesta de sodio (Fregly, 1981; Haddy, 1991; Lecos, 1983; Linas, 1991, citados por Aliño et al., 2009).

En este sentido, durante las últimas dos décadas, se han llevado a cabo numerosos intentos para llegar a la mezcla adecuada de sales NaCl/KCl para la obtención de productos cárnicos bajos en sal. De hecho, algunos autores concluyeron que una formulación que no supere el 40 % de KCl provoca cambios sensoriales prácticamente inapreciables (Hand, Terrell & Smith, 1982; Keeton, 1984; Gou, Guerrero, Gelabert & Arnau, 1996; Gelabert, Gou, Guerrero & Arnau, 2003). En estudios más recientes, como el de Armenteros et al. (2009b), llegan incluso a una sustitución del 50 % de KCl.

Con respecto a los jamones curados con sustitución parcial de cloruro sódico por sales magnésicas y cálcicas, se observó que daban lugar a actividades de agua mayores, dado que tardan más tiempo en penetrar en el músculo (Aliño, Grau, Toldrá et al., 2010).

En cuanto a la calidad sensorial, en un estudio realizado en lomo curado con 25 % KCl, 15 % CaCl₂ y 5 % MgCl₂, no se obtuvieron diferencias significativas comparadas con el control 100 % NaCl (Armenteros, Aristoy, Barat & Toldrá, 2009a), aunque sí se observaron defectos sensoriales si se realizaba la misma experimentación en jamón curado, hecho que complica su uso potencial como alternativa al sodio (Armenteros et al., 2012).

Seguimiento del proceso desde el punto de vista bioquímico

Estas mezclas de sales con bajo contenido en sodio influyen directamente en la proteólisis, uno de los principales factores que afectan a la calidad final del jamón curado (Harkous et al., 2012), responsable del desarrollo de la típica textura, apariencia y flavor del jamón curado durante el secado y maduración (Arnau, Guerrero & Sárraga, 1998; García-Garrido, Quiles-Zafra, Tapiador & Luque de

Castro, 2000; Toldrá & flores, 1998; Toldrá, Aristoy & Flores, 2000; Zhao et al., 2008). De esta forma, el estudio del fenómeno proteolítico adquiere una gran importancia en los cambios que se produzcan en el proceso de elaboración de este producto.

Armenteros et al. (2009a, 2009b), pusieron de manifiesto que sustituciones del 50 % de NaCl por KCl, en muestras de lomo curado, no afectaban de manera significativa al proceso proteolítico, mientras que el empleo de sales de Ca^{2+} y Mg^{2+} conducían a una mayor proteólisis. Esta proteólisis conduciría a jamones curados excesivamente blandos, pastosos y de sabor desagradable (Parolari, Virgili & Schivazappa, 1994; Toldrá & Flores, 1998; Virgili, Parolari, Schivazappa, Bordini & Borri, 1995). En 2012, basándose en sus experiencias de fabricación de lomo curado, lo aplicaron en la elaboración de jamón curado, empleando formulaciones que incluyeran bajas concentraciones (alrededor de 2,5 %) de sales de cloruro de Ca^{2+} y Mg^{2+} , no alterando de manera significativa el fenómeno proteolítico durante su proceso de elaboración. Este último resultado se corrobora con los obtenidos en este trabajo de tesis doctoral que comienza en julio de 2011, y que por entonces no se disponía de dichas conclusiones.

En base a una profunda revisión del estado del arte de los estudios publicados hasta la fecha y teniendo en cuenta los resultados obtenidos, durante 2011, CAMPOFRIO FOOD GROUP en colaboración con el Centro Tecnológico CARTIF se plantean el escalado a nivel industrial del proceso con algunas modificaciones y realizando pruebas con diferentes formulaciones para intentar evitar los principales problemas detectados hasta el momento.

Desarrollo de aplicaciones NIR de los parámetros implicados en el proceso de reducción de sal

Teniendo en cuenta la importancia de los cambios generados por la reducción de sodio en el proceso de curación del jamón, se plantea la utilización de la técnica de espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS) para hacer el seguimiento del proceso, con el objetivo de llevar a cabo la determinación de los parámetros implicados en la elaboración de cada pieza, para controlar la calidad del producto final.

La espectroscopía de infrarrojo cercano es una técnica analítica sensible y de fácil manejo, aplicable tanto en el entorno de laboratorio como en la industria, ampliamente utilizada para determinar la composición de muestras de forma rápida, simple y no destructiva (Požic, Mastilovic & Majcen, 2012). Esta técnica, además de una fácil preparación de las muestras, permite una evaluación simultánea de diferentes propiedades (Collell, Gou, Arnau & Comaposada, 2011), mediante el desarrollo de calibraciones que relacionan la medida espectral de la muestra con el dato analítico del parámetro a estudio determinado por vía húmeda utilizando el método de referencia apropiado. La información espectral NIR, debido a su complejidad, necesita de herramientas de análisis de datos multivariantes para llevar a cabo el ajuste lineal de la información disponible (Pérez-Marín, Garrido-Varo & Guerrero, 2007).

En este capítulo se han desarrollado calibraciones de los parámetros más influyentes en el proceso de curación de dos tipos de jamones, que además han sido elaborados empleando distintas técnicas de salazón, jamón magro en bandeja y graso en tina. Con ello, se pretende demostrar la viabilidad de la técnica NIRS para llevar a cabo el control y seguimiento de todas las etapas del proceso hasta la obtención del producto final.

En conclusión, uno de los objetivos es alcanzar una reducción en sodio entre un 25 y un 50%, mediante sustitución parcial por otras sales de cloruro de K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} , empleando diferentes formulaciones, consiguiendo mantener las propiedades organolépticas propias del producto actual, evitando la aparición de texturas defectuosas e impidiendo las alteraciones microbianas derivadas de la reducción de sal.

Posteriormente, desarrollar un método de medida para la determinación de los parámetros implicados en el proceso de curación del jamón mediante la tecnología no destructiva de espectroscopía de infrarrojo cercano.

La reducción del contenido en sal, junto con el control preciso de las sales de sustitución y del proceso global, da lugar, tras un escalado de la producción, a un alimento novedoso en el mercado español que supone la posibilidad de ampliar el rango de consumo de este embutido a sectores de la sociedad más preocupados por su salud.

2. EXPERIMENTACIÓN

2.1 Diseño experimental

El proceso de curación de jamón con reducción de sal, se llevó a cabo mediante sustitución parcial de cloruro de sodio por cloruro de potasio, calcio y magnesio. Para ello, se emplearon diferentes formulaciones (por motivos relacionados con las características de fabricación, propias de la empresa, no es factible reflejar de forma más explícita las formulaciones de las variantes empleadas):

- Variante 1: máximo contenido en Na.
- Variante 2: primera sustitución de un porcentaje de Na por K.

- Variante 3: segunda sustitución, diferente a la primera, de un porcentaje de Na por K.
- Variante 4: tercera sustitución de un porcentaje Na por K, Ca y Mg.

El diseño de experimentos se definió en función de una combinación de dos factores: tipo de salazón y contenido en grasa del jamón. Las pruebas consistieron en la aplicación de las diferentes formulaciones en la etapa de salazón de dos tipos de jamón, *magro en bandeja* y *graso en tina*. Dichas experiencias se llevaron a cabo en tres instalaciones propiedad de CAMPOFRÍO (Torrijos, Trujillo y Jamones Burgaleses). Cada uno de los jamones fue bridado para su identificación a lo largo de todo el proceso.

Con el fin de monitorizar el avance del proceso, además de los controles intermedios, se determinó:

- Peso al inicio por partida e individual.
- Peso a la salida de sal por partida e individual.
- Contenido graso individual al principio y al final del proceso de producción.
- Peso de los carros por partida en los diferentes hitos de merma para el cambio de ciclo.

Para el seguimiento de todo el proceso se llevó a cabo la determinación de los parámetros implicados. Para ello, se siguió un metodología de toma de muestra al final de cada etapa: salazón, postsalado y curado. Se tomó una muestra de diez jamones para cada una de las formulaciones y se analizaron por separado las tres partes en las que se dividió cada muestra (corteza, magro y tocino). En las dos primeras etapas se cortaron lonchas centrales de la pieza, de 1 kg de peso, se

envasaron a vacío y se congelaron. En la tercera etapa se utilizó la mitad de los jamones, envasados al vacío y refrigerados.

La duración de cada etapa difiere bastante, unos veinte días para la primera etapa de salazón, unos cuatro meses para la segunda etapa de postsalado y para la tercera y última etapa de curado, aproximadamente un año.

Una vez realizada la toma de muestra al final de cada etapa, se enviaron a la fábrica de Campofrío en Burgos, donde se separaron en tres partes: corteza, magro y tocino, se trituraron y envasaron individualmente en dos recipientes de plástico, uno de ellos permaneció en Burgos para la determinación de ciertos parámetros físico-químicos, análisis microbiológico y sensorial, y el otro se envió a las instalaciones de CARTIF para llevar a cabo la determinación de los iones implicados en el proceso, así como de la actividad proteolítica. Dichas muestras se congelaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a la espera de ser medidas, para evitar en lo posible alteraciones en la actividad enzimática y por lo tanto, evitar medidas erróneas de la proteólisis.

En este trabajo se ha desarrollado el estudio de la difusión de sales empleadas y el control de otros parámetros implicados en el proceso, incluyendo el seguimiento de la actividad proteolítica. A su vez, con los datos de estos parámetros recogidos durante el proceso se han desarrollado calibraciones empleando la tecnología NIRS.

La metodología empleada durante el desarrollo de esta actividad consistió en la descongelación de la muestra en una cámara frigorífica a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante la noche previa a su determinación. Una vez acondicionada a temperatura ambiente, en primer lugar, se llevó a cabo la toma espectral con un equipo NIR de laboratorio y a continuación el análisis vía húmeda de los diferentes parámetros.

2.2 Análisis de referencia

Se realizaron análisis físico-químicos y microbiológicos a lo largo de todo el proceso. En las fases de postsalado y final de curación también se hizo un estudio bioquímico y organoléptico.

Análisis físico-químico

- Análisis de cloruros:

Determinación por valoración con nitrato de plata (Método de Mohr).

- Análisis de contenido graso:

El contenido en materia grasa total se lleva a cabo mediante extracción de la misma, previamente desecada, con éter de petróleo como agente extractante. Se elimina el disolvente por evaporación (Método de Soxhlet).

- Análisis de nitrógeno total:

Tratamiento de la muestra con ácido sulfúrico 96 %, catalizado con selenio, el destilado se recoge sobre ácido bórico (Método Kjeldahl).

- Análisis de proteína:

El contenido en proteína bruta es el resultado de multiplicar el contenido en nitrógeno por el factor de conversión del nitrógeno en proteína.

% Proteína bruta = 6,25 x % N.

- Determinación de contenido en humedad:

El contenido de humedad se determina por la pérdida de peso de la muestra después de 24 horas a 103 °C ± 2 según la AOAC (1990).

- Medida de la actividad de agua: Medida directa con Aqualab CX-2.

➤ Determinación de cationes:

El contenido de los cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2}) se determina mediante espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES).

Análisis bioquímicos: Actividad proteolítica

Para la determinación de la actividad proteolítica se llevó a cabo el seguimiento del índice de proteólisis en las etapas de postsalado y curado. El índice de proteólisis (IP) es el porcentaje del cociente entre el contenido de nitrógeno no proteico (NNP) y el nitrógeno total (N_T) (Careri et al., 1993, citado por Harkouss, Mirade & Gatellier, 2012; Benedini, Parolari, Toscani & Virgili, 2012).

El NNP se obtuvo mediante la precipitación de proteínas con ácido tricloroacético (Kerese, 1984) seguido por la determinación de nitrógeno en el extracto. El N_T se realizó directamente sobre la carne. Para la determinación de ambos contenidos en nitrógeno se siguió el método Kjeldahl.

Análisis microbiológico

La finalidad de estos análisis fue comprobar la evolución de la flora microbiana en el producto, y su afección por las reducciones de sal. Los microorganismos analizados fueron: *Clostridium spp*, *E. coli*, Enterobacterias, Lactobacilos, *Listeria monocytogenes*, *Listeria spp*, Flora total, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus*.

Análisis sensorial

Los estudios sensoriales fueron catas realizadas por paneles de catadores no entrenados (consumidores) con el fin de determinar las diferencias existentes entre los procesos y productos analizados.

2.3 Adquisición de espectros

La medida espectral se llevó a cabo sobre la muestra de carne de magro picada con el espectrómetro de infrarrojo cercano por Transformada de Fourier FT-NIR modelo MPA (Multi Purpose Analyzer) de Bruker Optics, que abarca desde 15.000 hasta 3.600 cm^{-1} (660-2780 nm), dependiendo del detector. Se desarrollaron dos tipos de medida: reflectancia y transmitancia. En el caso de las medidas por reflectancia o reflexión se emplea el módulo de esfera integradora diseñado para la medida directa de un área de muestra de 15 mm^2 de diámetro, en este tipo de dispositivo la muestra se introduce en un vaso de cuarzo que una vez acoplado dentro de la superficie de la esfera integradora va girando, con lo que la superficie irradiada representa una corona circular 34,7 cm^2 de área, en este modo se utiliza un detector de PbS (12.800-3.600 cm^{-1}). En las medidas por transmitancia, la muestra se introduce en una placa Petri que se encaja nuevamente en la esfera, pero esta vez se acopla sobre la esfera un cabezal que contiene la unidad de transmisión en el que se encuentra un detector de InGaAs (15.000-9.000 cm^{-1}).

En cada modo de análisis, reflectancia y transmitancia, se obtuvieron cuatro espectros para cada muestra, dos de ellos se tomaron a 32 barridos y otros dos a 64, ambos realizados con una resolución de 16 cm^{-1} . El tiempo de adquisición para cada par de espectros fue de 10,08 y 20,22 segundos, respectivamente.

2.4 Análisis estadístico

Para la interpretación de los datos obtenidos de los análisis de referencia de los parámetros del estudio se aplicaron diferentes métodos de análisis estadístico: Prueba de la Q de Dixon, Análisis de la varianza (ANOVA), Diferencia Significativa Mínima de Fisher (LSD) y Diagrama de cajas Box-Plot.

Para la *identificación y rechazo de datos anómalos (atípicos)*, se utilizó la **Prueba estadística de la Q de Dixon** (Dean & Dixon, 1951), que asume una distribución normal y no debe utilizarse, normalmente, más de una vez en un conjunto de datos. Esta prueba utiliza relaciones de las diferencias entre datos que parecen atípicos comparados con los valores del conjunto. El criterio para rechazar el dato discordante es mediante la comparación con un valor crítico de una tabla, y el valor experimental obtenido tras aplicar la prueba de Dixon se declara valor atípico si supera ese valor crítico. El valor tabulado depende del tamaño de la muestra, n , y de un nivel de confianza elegido, que es el riesgo de rechazar una observación válida. La tabla por lo general utiliza niveles de confianza bajos (1 o 5 %).

Para llevar un *control de los datos analíticos resultantes del proceso* en estudio, se aplicó el **Análisis de la varianza (ANOVA)**, que es una prueba paramétrica y requiere de una serie de supuestos para poder ser aplicada correctamente, como es que cada uno de los grupos a comparar tenga distribuciones normales o lo que es más exacto, que lo sean sus residuales (diferencias entre cada valor y la media de su grupo). Además, se estudia la dispersión o varianzas de los grupos, es decir su homogeneidad.

El ANOVA es la generalización de la t de Student, y su hipótesis nula afirma que las medias de los grupos son iguales y por tanto, las diferencias encontradas pueden explicarse por el azar. Dicho de otro modo, los grupos proceden de poblaciones con medias iguales. En cuanto a la hipótesis alternativa, al menos uno de los grupos tiene una media distinta del resto de grupos.

La estrategia para poner a prueba la hipótesis de igualdad de medias consiste en obtener un estadístico, llamado F de Fisher-Snedecor, que refleja el grado de parecido existente entre las medias que se están comparando. El numerador del

estadístico F es una estimación de la varianza poblacional basada en la variabilidad existente entre las medias de cada grupo (intergrupo). El denominador del estadístico F es también una estimación de la varianza poblacional, pero basada en la variabilidad existente dentro de cada grupo (intragrupo o error). Una vez calculadas las varianzas inter e intragrupos, se calcula el cociente entre ambas y se comprueba si el efecto observado (numerador) es tan grande como para no poder ser explicado por el error aleatorio (denominador). Si las medias poblacionales son iguales, las medias muestrales serán parecidas, existiendo entre ellas tan sólo diferencias atribuibles al azar. El valor de la distribución F es conocido y está tabulado, si este estadístico de contraste supera cierto valor crítico, diremos que las diferencias son estadísticamente significativas.

El ANOVA detecta las diferencias estudiando globalmente si los grupos tienen medias distintas, pero no indica entre qué grupos se encuentran dichas diferencias. Para ello, se recurrió a la prueba de **Diferencia Significativa Mínima de Fisher (LSD)** como *método de comparación de diferencia de medias*. Este procedimiento es una extensión de la prueba t de Student para el caso de comparación de dos medias con varianza ponderada. Por tanto, la LSD se define como la diferencia mínima que podría existir entre dos medias de muestras significativamente diferentes. Para obtener su fórmula se usa la prueba t de Student para la diferencia entre dos medias cuando las varianzas no son diferentes. Si el valor calculado es mayor que el valor t teórico (tabulado) se dice que la diferencia entre las dos medias de cada grupo es significativa. El grupo cuya media esté involucrada más veces durante la prueba, es el que se considera responsable de las diferencias significativas encontradas en el análisis ANOVA y por tanto, el que se desvía del proceso estudiado.

Otra herramienta estadística empleada en el estudio fue el **Diagrama de cajas o Box-Plot** que es un *instrumento gráfico en la estadística descriptiva* que permite realizar un análisis más detallado y conciso respecto a la distribución de los datos en la muestra, proporcionando una visión general de la simetría de la distribución de los datos.

Esta presentación visual asocia cinco medidas descriptivas del conjunto de datos que suelen trabajarse de forma individual: mediana, primer cuartil, tercer cuartil, valor máximo y valor mínimo y presenta al mismo tiempo, información sobre la tendencia central, dispersión y simetría de los datos de estudio. Además, permite identificar con claridad y de forma individual observaciones que se alejan de manera poco usual del resto de los datos (valores atípicos).

En cuanto al *desarrollo de los modelos de calibración NIR* se empleó el **Análisis de Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales (PLSR)**, utilizando dos software quimiométricos OPUS/QUANT™ versión 7.0 y The Unscrambler 10.2. Se empleó el método de validación cruzada para determinar el número de factores de las ecuaciones de los modelos de regresión, evitando el sobreajuste.

Para optimizar la precisión de los modelos reduciendo el ruido y los efectos de dispersión de los espectros adquiridos, se emplearon transformaciones mediante tratamientos matemáticos y de corrección de dispersión. Durante el proceso de calibración los valores atípicos se identificaron y eliminaron del modelo. Al disponer de un conjunto de muestras pequeño, en un primer desarrollo, se emplearon todas las muestras en el conjunto de calibración. Para establecer la precisión de los modelos desarrollados se compararon los errores en validación cruzada (SECV) y los obtenidos por vía húmeda en el laboratorio (SEL).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En un primer lugar se presenta un resumen de los resultados obtenidos para todos los parámetros estudiados en el seguimiento del proceso de curación de jamón con reducción de sal. La interpretación de estos resultados corrobora las conclusiones a las que se llegaron en estudios anteriores citados en la introducción y durante la discusión, y a partir de los cuales se ha podido llevar a cabo el desarrollo de este trabajo.

El estudio de curación de jamón con contenido reducido en sodio se llevó a cabo para dos tipos de jamones, magro salado en bandeja y graso en tina.

En segundo lugar, con los datos obtenidos en el proceso anterior, se desarrollaron modelos de calibración para los diferentes parámetros.

Los resultados se presentan para cada uno de los jamones estudiados por separado, dada la poca incidencia de la sal en las muestras de tocino y corteza y la disparidad de resultados, se procedió únicamente al seguimiento del estudio en la parte magra del jamón.

3.1 Jamón magro en bandeja

3.1.1 Estudio de la difusión de las sales empleadas en el proceso para la reducción del contenido de sodio en jamón curado.

Se realizó el estudio de la difusión de las sales de los distintos cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2}) empleados en el proceso de curación. La variante 1 se considera de control, debido a que es la formulación que habitualmente se emplea en la curación del jamón.

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos de la determinación vía húmeda de los cuatro cationes y los porcentajes teóricos esperados para los

cationes, sodio y potasio, según la formulación empleada en cada variante. Los datos de sodio teórico se han calculado tomando el 100 % como el valor obtenido en la variante 1 (0,99 % Na). Para el potasio, se ha considerado que el porcentaje real añadido se corresponde con el valor obtenido en la variante 2 menos el de la variante 1, que no incluye potasio en su formulación y a partir de este dato se han calculado los porcentajes.

Tabla 1. Seguimiento del contenido de cationes en jamón magro en bandeja en las diferentes etapas del proceso de curación

Variante	Parámetro									
	Sodio (%)		Potasio (%)				Calcio (%)		Magnesio (%)	
	Promedio real	SD	Promedio teórico	Promedio real	SD	Promedio teórico	Promedio	SD	Promedio	SD
Etapa salado										
V-1	0,99	0,08	0,99	0,37	0,04	0,37	0,04	0,01	0,03	0,00
V-2	0,73	0,13	0,69	0,60	0,09	0,60	0,02	0,01	0,02	0,00
V-3	0,68	0,06	0,55	0,74	0,04	0,71	0,02	0,00	0,02	0,00
V-4	0,61	0,08	0,55	0,70	0,07	0,67	0,03	0,01	0,03	0,00
Etapa postsalado										
V-1	1,51	0,12	1,51	0,53	0,02	0,53	0,02	0,00	0,03	0,00
V-2	1,08	0,11	1,06	0,88	0,06	0,88	0,02*	0,00	0,03	0,00
V-3	1,00	0,10	0,83	1,10	0,07	1,06	0,02	0,00	0,03	0,00
V-4	0,98	0,15	0,83	1,06	0,10	1,00	0,03	0,01	0,04	0,00
Etapa curado										
V-1	1,63	0,17	1,64	0,62	0,04	0,62	0,02	0,00	0,03	0,00
V-2	1,31	0,14	1,14	1,09	0,11	1,09	0,02*	0,00	0,03	0,00
V-3	1,10	0,18	0,90	1,24	0,13	1,33	0,02*	0,00	0,03	0,00
V-4	1,12*	0,10	0,90	1,26*	0,13	1,25	0,03	0,01	0,04	0,00

*valor promedio con eliminación de las muestras detectadas en la prueba de la Q de Dixon

Los resultados obtenidos, para sodio y potasio en las muestras de jamón magro en bandeja, son congruentes, si se tienen en cuenta las formulaciones correspondientes a cada variante. En ambos cationes los datos reales obtenidos

son algo mayores que los previsibles calculados teóricamente. Además, al comparar entre los valores de sodio y potasio obtenidos en las variantes 3 y 4, se observa que a pesar de añadir menor cantidad de potasio se obtienen unos porcentajes mayores en el músculo. Estos resultados pueden ser debidos a que hay mayor penetrabilidad del ion K^+ en los músculos en comparación con el ion Na^+ (Aliño, Grau, Toldrá et al., 2010). En la etapa de postsalado, los valores de sodio y potasio siguen la misma tendencia que al final de la etapa de salado, siendo mayores los reales que los teóricos calculados, aunque en esta etapa de postsalado son mayores las diferencias entre ellos. Estas diferencias son aún más apreciables al final del proceso de curación. En esta etapa es donde se obtienen mayores valores de potasio comparados con los de sodio y es debido a su mayor facilidad de difusión.

En el caso de los cationes Ca^{2+} y Mg^{2+} , los resultados obtenidos son muy bajos y no permiten detectar la pequeña cantidad añadida en la formulación de la variante 4. Tras el proceso de salado, atendiendo a los valores obtenidos de los diferentes cationes, se observa una mayor penetración del potasio al contrario que los cationes calcio y magnesio que presentan más dificultad para penetrar el músculo, permaneciendo en la salmuera formada durante el salado.

En la Figura 1, se representa la distribución del sodio y potasio mediante un diagrama de cajas (Box-Plot), que permite comparar gráficamente el comportamiento de ambas variables en las diferentes variantes empleadas en el estudio. En el diagrama se aprecia la tendencia inversa de ambos cationes basada en los porcentajes añadidos en el salazón. A pesar de que el contenido inicial de potasio en todas las variantes es inferior al de sodio, hay un paralelismo en el comportamiento de las distribuciones a partir de la variante 2 y es debida a la mejor difusión del potasio a través de los músculos del jamón. Incluso en la etapa de curado el potasio se sitúa por encima del sodio.

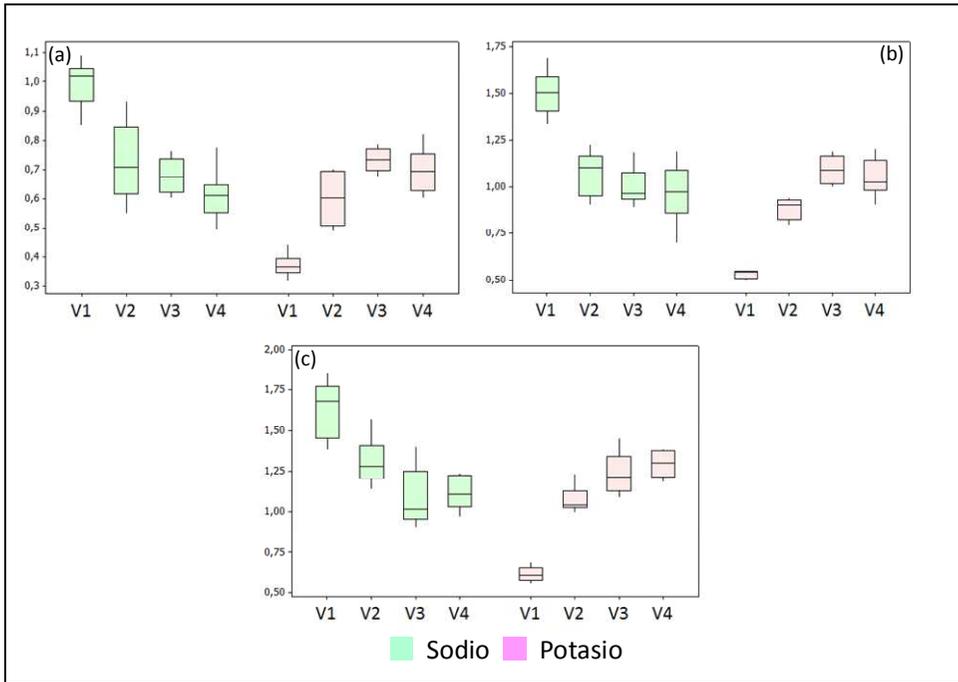


Figura 1. Box-Plot de sodio y potasio en las cuatro variantes de las diferentes etapas: (a) salado, (b) postsalado y (c) curado

3.1.2 Control de otros parámetros implicados en el proceso de curación del jamón con reducción de sodio

Estudio actividad proteolítica

La proteólisis es una de las principales reacciones bioquímicas que tienen lugar durante el proceso de curación del jamón (Harkouss et al., 2015) y se atribuye a la acción de las enzimas proteolíticas endógenas tras el periodo de salado (Cordero & Zumalacarregui, 2000; Armenteros et al., 2012). Por tanto, el estudio de la actividad proteolítica se llevó a cabo en las etapas de postsalado y curado. Los valores de N_T , NNP e IP obtenidos para los grupos de muestras de diez jamones de cada variante en las dos etapas estudiadas se presentan en el Anexo 3.1. Los promedios y desviaciones estándar de los valores del índice de proteólisis (IP) en porcentaje se muestran en la Tabla 2. Algunos valores anómalos, identificados

mediante la Prueba de Dixon, se eliminaron para el cálculo de las medias al considerarse no representativos dentro del conjunto (dichas muestras están marcadas con un asterisco en el correspondiente Anexo).

Tabla 2. Resultados de las analíticas de índice de proteólisis de muestras de magro de jamones magros en bandeja a los 120 días de postsalado y al final de curación

Etapa	Variante 1		Variante 2		Variante 3		Variante 4	
	IP (%) promedio	SD						
Postsalado	8,6*	1,5	8,3	1,6	8,8	0,8	8,2	1,0
Curado	13,5*	2,7	13,6*	2,4	13,7	2,2	13,7*	1,2

*Valor promedio eliminando datos anómalos con la Prueba de la Q de Dixon

Si se compara los valores de IP entre la etapa de postsalado y final de curación, se comprueba que los mayores índices se obtienen a final del proceso, tal y como mostraron los resultados presentados por Harkouss et al. (2015), donde los mayores incrementos en la actividad proteolítica aparecían durante la última etapa de curación, con un incremento promedio mensual entre 2-2,5 %.

Para estudiar cómo afecta a la actividad proteolítica la sustitución de sodio por otros cationes, se comparan los datos de IP entre variantes de una misma etapa, obteniéndose valores muy similares, lo que induce a pensar que hay una buena respuesta en las diferentes formulaciones empleadas. Los ANOVA de los datos obtenidos para las cuatro variantes en cada etapa por separado, no mostraron diferencias significativas entre ellos.

Por tanto, los resultados demuestran que la sustitución de una parte de cloruro sódico por cloruro potásico, cálcico y magnésico no altera la actividad proteolítica que transcurre durante el procesado del jamón curado, objetivo que se perseguía y que se traduce en la obtención de jamones con una dureza adecuada, lo que corrobora los resultados del estudio de Virgili et al. (1995), que concluyen que los defectos de textura están íntimamente relacionados con proteólisis anómalas.

Estudio de los parámetros físico-químico analizados

En la Tabla 3 se muestran los valores promedios de los parámetros, humedad, grasa, proteína, actividad de agua y cloruro de sodio, de diez jamones analizados para cada una de las variantes en las 3 etapas del proceso de curación. Las medias se calculan después de rechazar los datos identificados como anómalos mediante la Prueba de Dixon.

En el Anexo 3 se muestran los datos analíticos de los parámetros físico-químicos obtenidos de las muestras de jamones magros en bandeja después de 22 días de salado, 120 días de postsalado y final de curación.

Tabla 3. Resumen de los promedios de muestras de magro con las cuatro formulaciones en las tres etapas

Variante	Parámetro									
	Humedad (%)		Grasa (%)		Proteína (%)		Actividad de agua (a _w)		Cloruro de sodio (%)	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
Etapa salado										
V-1	69,87	0,98	4,44	0,98	22,06	0,52	0,98*	0,00	2,37	0,47
V-2	68,49	1,55	5,45	1,13	21,42	1,44	0,99	0,01	2,17*	0,23
V-3	69,73	0,86	4,98	0,75	21,15	1,46	0,98	0,01	2,62	0,26
V-4	69,66	1,56	4,64	0,97	21,06*	1,42	0,99	0,01	2,39	0,30
Etapa postsalado										
V-1	58,84*	1,64	5,98	1,26	27,56	1,28	0,97	0,01	3,70	0,26
V-2	58,10	1,04	6,18	1,50	27,12*	0,86	0,97	0,01	3,51	0,31
V-3	61,68	1,38	5,30	1,06	28,16	0,94	0,97	0,01	3,61	0,31
V-4	61,01*	1,03	5,81	1,68	28,87	3,59	0,97	0,01	3,52	0,50
Etapa curado										
V-1	52,37	1,16	10,11	1,90	31,70	1,36	0,94	0,01	4,05	0,33
V-2	51,82	2,09	9,27	1,20	32,95	3,23	0,93*	0,01	4,29	0,54
V-3	51,27	1,20	10,04	1,68	31,62	1,08	0,94	0,01	4,00	0,62
V-4	52,10	0,78	9,31	1,62	32,14	1,30	0,93	0,01	4,27	0,37

*Valor promedio eliminando datos anómalos con la Prueba de la Q de Dixon

La evolución a lo largo de las etapas de los diferentes parámetros medidos sigue la tendencia habitual del proceso de curación del jamón, sin apenas percibir desde el punto de vista físico-químico, ninguna diferencia entre las formulaciones planteadas. Los ANOVA de cada parámetro en cada etapa del proceso no detectan diferencias significativas entre los datos obtenidos para cada variante, a excepción del parámetro actividad de agua que presenta significancia estadística en la etapa de salado (Tabla 4).

Tabla 4. ANOVA del parámetro actividad de agua en la etapa de salado

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	P
Intergrupo (Factor: Variante)	3	0,00036	0,00012	3,35	0,03
Intragrupo (Error- residual)	35	0,00126	0,00004		
Total	38	0,00162			

F crítica (0,05; 3; 35) = 2,88

El valor del estadístico F (3,35) es mayor que el valor crítico (2,88) y el estadístico P inferior a 0,05, lo que indica la significancia estadística entre los valores obtenidos de a_w en las variantes durante la etapa de salado. Después de aplicar la Prueba LSD, se detecta la variante 2 como la responsable, no obstante solo 2 de las 3 diferencias entre las medias de la variante 2 con las otras variantes (0,007; 0,007; 0,002) presentan un valor ligeramente superior al valor de la diferencia mínima significativa teórica calculada (0,006), por tanto se puede decir que las diferencias entre variantes son prácticamente inapreciables.

Tras el salado de los jamones, durante la etapa de postsalado tiene lugar la difusión de las sales hacia el interior del jamón, provocando una ligera disminución de la actividad del agua y por lo tanto, asegurándose su conservación

cuando aumenta la temperatura en la siguiente etapa de secado y maduración. La sustitución de sodio por otros cationes retrasa la disminución de la actividad de agua con lo que se suelen precisar mayores tiempos de postsalado (Aliño, Grau, Toldrá et al., 2010). No obstante, los resultados obtenidos indican que no se precisa alargar esta etapa debido a que no se aprecian diferencias entre variantes, lo que significa que los porcentajes de los diferentes cationes en las formulaciones empleadas, en este sentido, son adecuados.

Estudio microbiológico

Se valoraron las características microbiológicas de los jamones elaborados con contenido reducido en sodio, con el fin de determinar si la disminución del ion sodio permitía un crecimiento de microorganismos patógenos, *Clostridium spp*, *E. coli*, Enterobacterias, Lactobacilos, *Listeria monocytogenes*, *Listeria spp*, Flora total, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus* y por lo tanto, podía suponer un riesgo microbiológico para la salud. Se evaluó la estabilidad microbiológica durante el proceso de elaboración y durante la vida útil del producto.

Estabilidad microbiológica de los jamones magros durante el proceso de elaboración

Los análisis realizados indican que el producto al final del proceso de curación no supera los límites establecidos por la legislación vigente (Figura 2).

- Recuentos totales iniciales altos que disminuyen con el tiempo de curación (disminuye la actividad de agua del producto).
- Recuentos de enterobacterias iniciales (incluida *E.coli*) en la etapa de salazón no muy elevados y con el tiempo esta flora desaparece.
- Los lactobacilos muestran un comportamiento más o menos constante durante todas las fases del proceso sin alcanzar valores muy elevados.

- No aparecen patógenos como *Listeria*, *Salmonella* o *S. aureus* en ninguna fase del proceso lo que indica que el producto es seguro microbiológicamente.

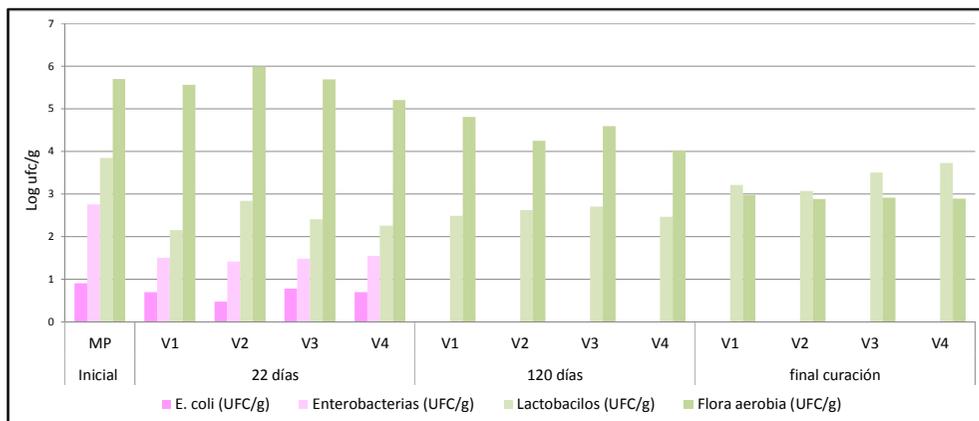


Figura 2. Evolución del crecimiento microbiano durante el proceso de elaboración de jamón curado con reducción de sal con las cuatro formulaciones (control V1)

Estabilidad microbiológica de los jamones magros durante su vida útil (Challenge Test)

En el estudio de estabilidad microbiológica de los jamones durante su vida útil se llevó a cabo un “Challenge test”, que permite evaluar la capacidad que presentan ciertos microorganismos para crecer o sobrevivir en el producto bajo ciertas condiciones ambientales. Para su desarrollo se utilizaron diferentes microorganismos patógenos y los resultados muestran que el jamón reducido en sodio es totalmente seguro desde el punto de vista microbiológico (Figura 3). La tendencia de las curvas de crecimiento obtenidas es siempre descendente, lo que indica que las características intrínsecas del alimento, junto con las condiciones de temperatura de almacenamiento, son suficientes para controlar el crecimiento de los microorganismos patógenos inoculados.

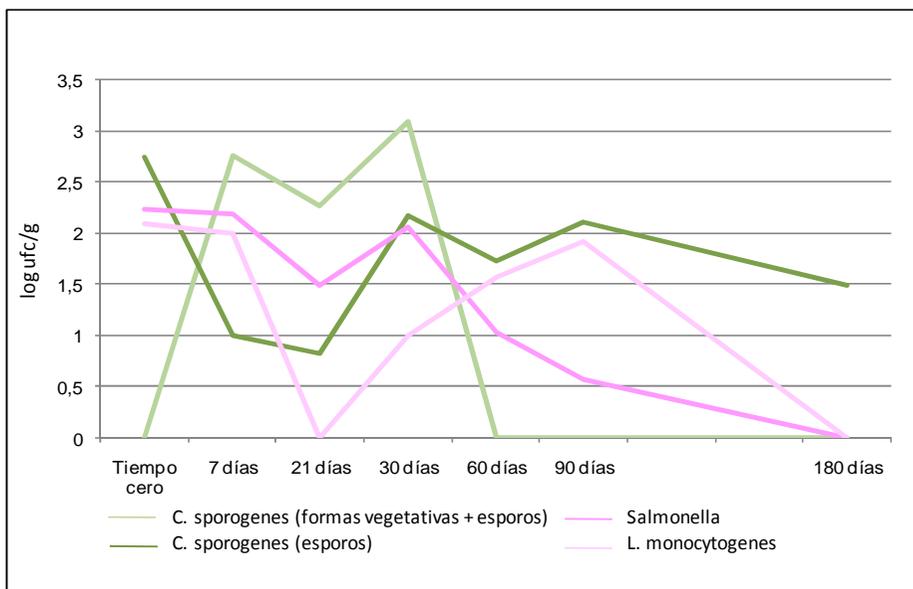


Figura 3. Evolución de microorganismos patógenos durante la vida útil de jamón curado con reducción de sodio (Variante 3)

Evaluación sensorial

Se valoraron organolépticamente las muestras de jamón elaboradas con la mezcla de sales de las cuatro formulaciones. De acuerdo con la información facilitada por la empresa, se apreciaron algunas diferencias entre ellas, aunque en general, los resultados fueron satisfactorios, no mostrándose diferencias en sabor, color y textura con los productos elaborados de forma tradicional.

3.1.3 Evaluación de los parámetros implicados en el proceso de reducción de sal mediante la tecnología NIRS

Se plantearon calibraciones de aquellos parámetros más significativos en el proceso de curación del jamón y que aportan una información relevante de las posibles modificaciones que tienen lugar en dicho proceso, como en este caso resulta la disminución del contenido de sodio y su sustitución con otros cationes.

Para el desarrollo de las calibraciones se utilizaron cuarenta muestras pertenecientes a las cuatro variantes, en dos etapas del proceso: postsalado y curado, un total de ochenta muestras. En la Tabla 5 se presentan los rangos de los parámetros y los estadísticos descriptivos, diferenciando entre las dos etapas, aunque se emplearon todos los valores para la construcción de los modelos.

Tabla 5. Resumen estadístico de los análisis físico-químicos

Parámetro	Etapas	Promedio	Rango	SD ^a	CV% ^b
Humedad (%)	Postsalado	59,57	50,90-64,14	2,48	4,16
	Curado	51,89	47,20-54,72	1,40	2,70
Grasa (%)	Postsalado	5,82	3,87-9,40	1,38	23,73
	Curado	9,68	6,61-13,32	1,61	16,60
Proteína (%)	Postsalado	28,04	25,29-37,78	2,12	7,54
	Curado	31,90	26,85-38,00	2,13	6,67
Actividad de agua (a _w)	Postsalado	0,97	0,95-1,00	0,01	0,99
	Curado	0,94	0,91-0,96	0,01	1,24
Cloruro de sodio (%)	Postsalado	3,58	2,47-4,29	0,35	9,81
	Curado	4,11	2,69-5,34	0,53	12,84
Sodio (%)	Postsalado	1,14	0,70-1,69	0,25	21,58
	Curado	1,28	1,77-1,86	0,27	21,40
Potasio (%)	Postsalado	0,89	0,55-1,21	0,24	26,38
	Curado	1,05	0,63-1,45	0,28	26,98
Nitrógeno (%)	Postsalado	4,49	4,05-6,04	0,34	7,54
	Curado	5,10	4,30-6,08	0,34	6,67
Índice de proteólisis (%)	Postsalado	8,66	6,14-15,23	1,62	18,74
	Curado	12,98	6,48-18,77	2,62	20,21

^aSD, desviación estándar.

^bCV, coeficiente de variación (SD * 100/promedio).

El análisis espectroscópico se llevó a cabo con el equipo NIR MPA por dos vías, mediante reflectancia y transmitancia (Figura 4).

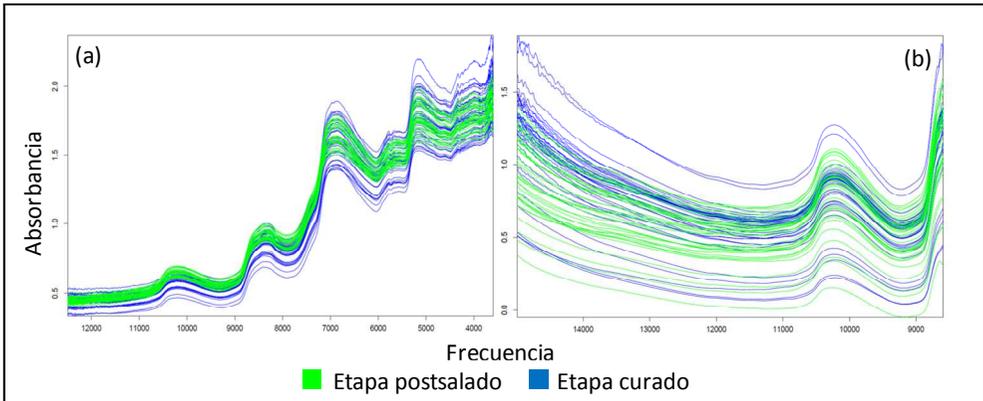


Figura 4. Espectros NIR a 32 barridos de las muestras de jamón graso en las etapas de postsalado y curado: (a) modo reflectancia y (b) modo transmitancia

Se desarrollaron las calibraciones empleando ambos tipos de espectros. En la evaluación de los modelos de calibración, en primer lugar, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA), donde se aprecia una clara separación entre las muestras pertenecientes a las diferentes etapas (Figura 5). Este análisis representa un resultado importante, debido a que el modelo construido no solo va a ser capaz de predecir el valor del parámetro sino de conocer a qué etapa del proceso corresponde la muestra desconocida.

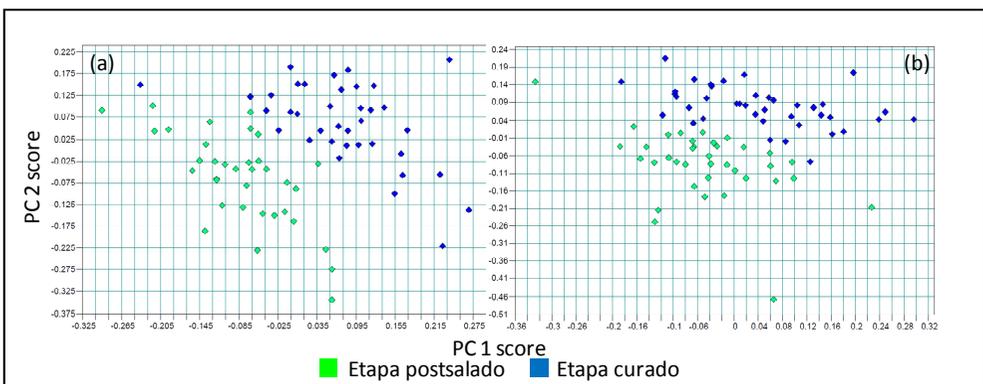


Figura 5. Gráfico de puntuación de los componentes principales PC1 y PC2.
(a) Modo reflectancia y (b) Modo transmitancia

Se han construido modelos de predicción empleando los dos métodos de medida, reflectancia a 32 y 64 barridos y transmitancia a 32 barridos, para los parámetros: humedad, grasa, proteína, actividad de agua, cloruro de sodio, sodio, potasio, nitrógeno e índice de proteólisis (Tabla 6).

El conjunto de calibración estaba compuesto por las muestras correspondientes a las cuatro variantes pertenecientes a las etapas de postsalado y curado. Cada grupo por separado contenía muy pocas muestras y por tanto, los resultados de los modelos empleando solo las muestras de un grupo no serían fiables. Se decidió juntar ambos grupos debido a los resultados obtenidos del PCA, donde se aprecia una clara diferenciación entre ellos.

Los mejores modelos construidos son los que emplean los espectros medidos en modo reflexión. Cuando el número de barridos se duplica, pasando de 32 a 64, algunos modelos mantienen sus resultados mientras que otros mejoran sensiblemente.

Los ajustes que obtienen un mejor resultado son para los parámetros humedad y proteína, donde los coeficientes de determinación en validación cruzada son 97 % y 91,5 %, respectivamente. Para los parámetros NaCl, a_w y N_T se obtienen ajustes aceptables con coeficientes R^2_{cv} comprendidos entre 80-84 %. Los modelos obtenidos para grasa e IP, son algo peores, siendo los R^2_{cv} próximos al 70 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 6. Resultados de calibración y validación cruzada

Parámetro	Método de referencia	Condiciones de medida		Calibración						Validación cruzada		
	SEL	Método de medida NIR	Nº Barridos	Nº muestras calibración	Rango de frecuencias (cm ⁻¹)	Pre-Procesamiento	Factores PLS	R ²	RMSEC	R ² cv	RMSECV	RPD
Humedad (%)	0,47	Reflexión	64	72	9.404-5.446 4.606-4.420	CDM	7	98,24	0,64	97,02	0,78	5,79
			32	71	9.404-5.446 4.606-4.243	CDM	7	98,32	0,62	97,04	0,77	5,81
		Transmitancia	32	72	9.404-8.655	CDM	5	91,57	1,34	89,19	1,52	2,91
Grasa (%)	1,26	Reflexión	64	72	6.102-4.243	1ª d.+CDM	4	76,61	2,31	68,75	2,52	1,79
			32	72	7.506-5.446 4.606-4.243	SNV	6	81,98	2,02	68,65	2,53	1,79
		Transmitancia	32	74	9.404-9.033	n.d.e.p	3	73,81	1,29	69,18	1,36	1,80
Proteína (%)	0,59	Reflexión	64	67	8.455-7.498 6.102-5.770	2ª d.	3	93,08	0,61	91,50	0,65	3,43
			32	65	9.404-6.094	EDC	3	84,53	0,90	82,25	0,93	2,37
		Transmitancia	32	70	9.404-8.655	CDM	4	87,02	0,86	82,57	0,96	2,40
Actividad de agua (a _w)	0,004	Reflexión	64	69	7.753-6.094 4.606-4.243	1ª d.+SNV	3	86,41	0,008	83,94	0,008	2,50
			32	69	7.506-6.094 5.454-4.598	1ª d.+SNV	3	85,15	0,008	82,41	0,009	2,38
		Transmitancia	32	69	9.404-8.655	CDM	4	78,87	0,01	72,27	0,01	1,90
Cloruro de sodio (%)	0,11	Reflexión	64	72	9.404-5.446	1ª d.+CDM	4	92,48	0,15	82,78	0,22	2,41
			32	71	9.404-4.598	CDM	8	90,53	0,17	81,67	0,22	2,34
		Transmitancia	32	71	9.404-9.026	1ª d.+CDM	1	38,29	0,36	32,13	0,37	1,21

Evaluación del seguimiento del proceso de curación del jamón con contenido reducido en sodio mediante tecnología NIRS

Parámetro	Método de referencia	Condiciones de medida		Calibración						Validación cruzada		
	SEL	Método de medida NIR	Nº Barridos	Nº muestras calibración	Rango de frecuencias (cm ⁻¹)	Pre-Procesamiento	Factores PLS	R ²	RMSEC	R ² cv	RMSECV	RPD
Sodio (%)	0,11	Reflexión	64	72	6.102-4.598	CDM	5	79,99	0,15	78,97	0,18	2,17
			32	72	9.404-7.498	SNV	7	78,87	0,16	70,01	0,20	1,84
		Transmitancia	32	74	9.404-9.026	CDM	4	54,47	0,23	47,74	0,25	1,40
Potasio (%)	0,11	Reflexión	64	72	9.404-6.094 5.454-4.598	CDM	8	54,06	0,20	33,01	0,22	1,22
			32	72	9.404-7.498 6.102-5.446	EDC	8	77,05	0,14	32,89	0,22	1,22
		Transmitancia	32	74	9.404-8.655	SLR	3	33,58	0,22	21,02	0,24	1,13
Nitrógeno (%)	0,10	Reflexión	64	63	9.404-8.447 4.852-4.243	SNV	2	82,54	0,16	80,37	0,16	2,26
			32	64	9.404-6.094	CDM	2	82,19	0,16	80,06	0,17	2,24
		Transmitancia	32	70	9.404-8.655	1ª d+ SNV	4	74,70	0,21	66,12	0,23	1,72
Índice de proteolisis (%)	1,53	Reflexión	64	66	7.506-6.094 5.454-4.598	1ª d+SLR	4	79,11	1,44	71,98	1,60	1,89
			32	69	7.506-4.598	SLR	6	84,63	1,24	69,19	1,67	1,80
		Transmitancia	32	70	9.404-8.655	1ª d+ SNV	3	64,62	1,79	54,23	1,98	1,48

CDM: Corrección de Dispersión Multiplicativa, SLR: Sustracción de Linea Recta, EDC: Elevación de Desnivel Constante, 1ª d.: Primera derivada, SNV: Normalización Vectorial, N mín-máx.: Normalización mínimo- máximo, 2ª d.: Segunda derivada, n.d.e.p.: No hay datos espectrales preprocesados, R²: Coeficiente de determinación en calibración, RMSEC: Error de predicción calibración, R²cv: Coeficiente de determinación en validación cruzada, RMSECV: Error de predicción en validación cruzada, RPD: Desviación residual de predicción, SEL: Error estandar de duplicados.

En la mayoría de los casos los errores de predicción son similares a los errores propios de método de referencia. En algunos parámetros como la humedad, grasa y cloruro de sodio resultan algo mayores, esta diferencia disminuiría si calculáramos ambos errores empleando las muestras de una misma etapa debido a que al ser muestras que se encuentran en el mismo punto del proceso los valores de los parámetros son más similares. Por otro lado, también influye el número de muestras del conjunto de calibración (con un máximo de 72 muestras). Como de forma general se constata en la bibliografía, se necesita de un mayor número de muestras (entre 200 y 1000, en función del parámetro y de la complejidad de la muestra) para obtener modelos con buena capacidad predictiva.

No obstante, aunque no existen normas que determinen la bondad del modelo, la mayoría de los investigadores NIRS consideran que los modelos que tengan un error de validación cruzada de una magnitud 1 a 1,5 veces el SEL tienen una precisión excelente, como es el caso de los modelos para los parámetros IP, proteína y nitrógeno total. Para el resto de los parámetros los valores de SECV son 2 a 3 veces el SEL, lo que indica una buena precisión. Otro criterio que se suele tener en cuenta es que los errores de calibración y validación cruzada no son significativamente diferentes cuando se diferencian en menos del 20 %, en nuestro caso lo cumplen todos los modelos desarrollados para todos los parámetros (Delgado, 2003).

En cuanto a la capacidad predictiva de los modelos (RPD), a excepción de los parámetros humedad y proteína, con unos valores del 5,79 y 3,43, respectivamente, el resto de parámetros son iguales o inferiores a 2,5, lo que indica que se precisa de un mayor conjunto de muestras de calibración para obtener una capacidad de predicción fiable. Varios autores consideran que un modelo es adecuado desde el punto de vista analítico cuando la capacidad

predictiva es superior a 2,5 (Sinnaeve, Dardenne, Agneessens & Biston, 1994; Conzen, 2006).

En los modelos de predicción para sodio y potasio se obtienen buenos ajustes, no obstante teniendo en cuenta que en su desarrollo se incluyeron muestras pertenecientes a las cuatro variantes. Con el objetivo de mejorarlos, se probaron diferentes combinaciones de las variantes, considerando el contenido de cada catión en la formulación empleada en cada una de ellas (Tabla 7).

En el caso de los modelos para la determinación de sodio, en un principio, se tomaron las muestras correspondientes a la variante 1 por contener únicamente sodio en su formulación. El modelo así desarrollado obtiene mejores resultados pero no es muy apreciable debido al número tan reducido de muestras empleado en su construcción. Si se incluye la variante 2 que contiene un porcentaje elevado de sodio mejora el modelo, obteniendo un ajuste del 87,46 % de R^2_{cv} , frente al valor de 78,97 % obtenido con las cuatro variantes, también disminuye el error RMSECV desde 0,18 % a 0,11 % Na.

En el caso del potasio se han construido calibraciones teniendo en cuenta las variantes cuyas formulaciones contienen este catión (Tabla 7). Cuando se emplean las muestras de las variantes 2, 3 y 4, el ajuste mejora considerablemente pasando del 33 % de R^2_{cv} obtenido con las cuatro variantes al 81,74 % y de un error RMSECV de 0,22 % al 0,07 % K. Los modelos mejoran aún más considerando únicamente las variantes 3 y 4, donde el porcentaje de potasio añadido es similar. En este último caso el coeficiente de regresión supera el 90 % y el error de predicción disminuye hasta el valor de 0,04 % K.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 7. Comparación de modelos de predicción para sodio y potasio en función de las variantes de las muestras del conjunto de calibración

Parámetro	Método de referencia	Condiciones de medida		Variante	Calibración					Validación cruzada				
	SEL	Método de medida NIR	Nº Barridos		Nº muestras calibración	Rango de frecuencias (cm ⁻¹)	Pre-Procesamiento	Factores PLS	R ²	RMSEC	R ² _{cv}	RMSECV	RPD	
Sodio (%)	0,11	Reflexión	64	V- 1/ V-2/ V-3/ V-4	72	6.102-4.598	CDM	5	79,99	0,15	78,97	0,18	2,17	
				V- 1/ V-2	40	7.506-4.243	N mín-máx	8	96,16	0,08	87,46	0,11	3,16	
				V- 1	19	9.404-7.498	EDC	8	92,98	0,10	83,02	0,13	2,95	
			32	V- 1/ V-2/ V-3/ V-4	72	9.404-7.498	SNV	7	78,87	0,16	70,01	0,20	1,84	
				V- 1/ V-2	40	7.506-6.094 5.454-4.243	N mín-máx	9	90,59	0,13	88,52	0,12	3,11	
				V- 1	20	4.605-4.243	2ª d.	8	89,20	0,12	74,27	0,14	1,86	
			Transmitancia	32	V- 1/ V-2/ V-3/ V-4	74	9.404-9.026	CDM	4	54,47	0,23	47,74	0,25	1,40
					V- 1/ V-2	39	9.404-8.655	1ª d.+CDM	5	78,43	0,17	67,53	0,20	1,65
					V- 1	19	9.404-9.026	1ª d.+CDM	5	82,10	0,12	77,67	0,13	2,11
Potasio (%)	0,11	Reflexión	64	V- 1/ V-2/ V-3/ V-4	72	9.404-6.094 5.454-4.598	CDM	8	54,06	0,20	33,01	0,22	1,22	
				V-2/ V-3/ V-4	51	9.404-7.498 6.102-5.446	CDM	10	95,53	0,04	81,74	0,07	2,34	
				V-3/ V-4	32	7.506-5.446	CDM	5	96,59	0,03	90,87	0,04	3,31	
		32	V- 1/ V-2/ V-3/ V-4	72	9.404-7.498 6.102-5.446	EDC	8	77,05	0,14	32,89	0,22	1,22		
			V-2/ V-3/ V-4	53	6.102-4.243	SNV	7	95,82	0,04	76,84	0,08	2,08		
			V-3/ V-4	33	9.404-4.598	CDM	7	95,76	0,03	85,54	0,05	2,64		
		Transmitancia	32	V- 1/ V-2/ V-3/ V-4	74	9.404-8.655	SLR	3	33,58	0,22	21,02	0,24	1,13	
				V-2/ V-3/ V-4	55	9.404-9.026	CDM	8	82,99	0,07	63,07	0,10	1,65	
				V-3/ V-4	33	9.404-8.655	CDM	10	90,77	0,05	56,30	0,09	1,51	

En la representación gráfica del modelo óptimo obtenido para cada parámetro, se observa la agrupación de las muestras en función de la etapa a la que corresponden (Figura 6). Los resultados corroboran el obtenido en PCA.

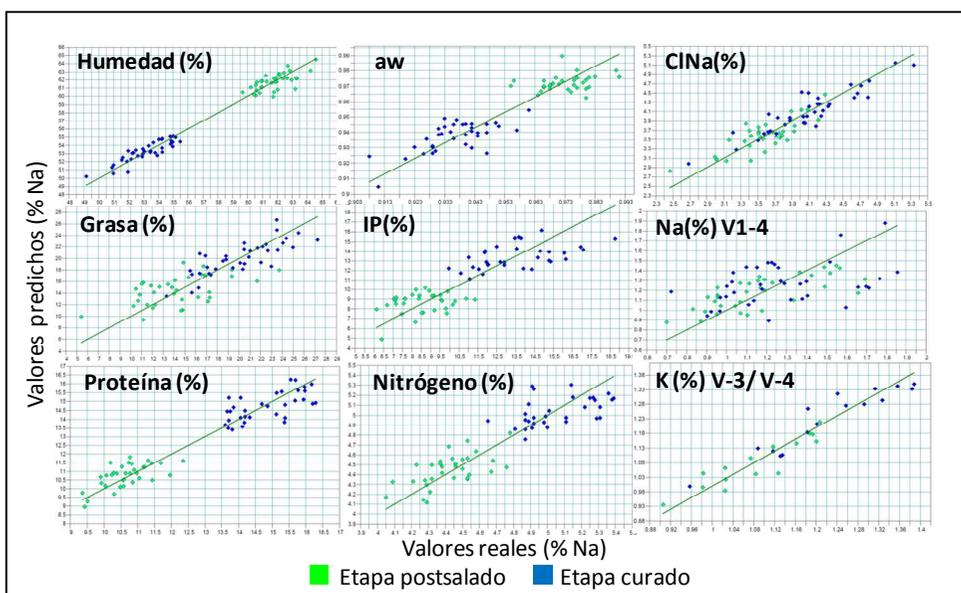


Figura 6. Gráfico de predicción NIR: Valores predichos frente a reales para los diferentes parámetros. El índice de proteólisis es el parámetro que mejor explica las modificaciones en la relación entre el contenido de agua y los parámetros de textura como la dureza, cohesividad y elasticidad en los músculos de jamón curado (Ruiz-Ramírez, Serra, Gou & Arnau, 2006). Un mejor conocimiento y control de estos fenómenos que tienen lugar durante la curación puede favorecer una textura optimizada del producto (Harkouss et al., 2015). Con este fin y en vista de los resultados obtenidos, se está planteando obtener calibraciones del índice de proteólisis, al final de la etapa de salado, sobre la pieza entera de jamón. De este modo se podrá actuar sobre el contenido de las sales, principales responsables de la actividad proteolítica, asegurando así una textura adecuada al final de la curación de cada una de las piezas.

La actividad del agua está relacionada directamente con el grado de curación del jamón. Un control de este parámetro durante la última etapa del proceso permitiría modificar las condiciones sobre la pieza, alcanzando al final del proceso jamones con el grado de curación deseado. El modelo de predicción obtenido para la actividad del agua indica la posibilidad de aplicar la tecnología NIRS en el control de este parámetro, incluyéndose el desarrollo de este trabajo en el proyecto que se plantea en el punto anterior.

Los modelos construidos aportan información suficiente que demuestra la viabilidad de la técnica NIRS para la predicción de los parámetros implicados en el proceso de curación del jamón, aunque se requiere de un conjunto mucho mayor de muestras para mejorar su precisión y que puedan ser utilizados en un futuro para el seguimiento del proceso de reducción de sal que se lleve a cabo en la empresa.

En este trabajo no se contempla desarrollar la validación externa de los modelos, ya que al disponer de muestras limitadas nos obligaría a utilizar parte de ellas en el proceso de validación, lo que incidiría en una disminución de las muestras para la calibración, quedando el modelo más impreciso.

3.2 Jamón graso en tina

3.2.1 Estudio de la difusión de las sales empleadas en el proceso para la reducción del contenido de sodio en jamón curado

Se realizó el estudio de la difusión de las sales de los distintos cationes empleados en el proceso de curación. Las formulaciones empleadas se corresponden con las tres primeras variantes del estudio realizado en jamón magro, siendo la variante 1 el control, eliminando la cuarta variante que es la que incluye sales de metales

divalentes, calcio y magnesio, debido a la poca relevancia de dichos cationes en el salado de los jamones.

Se calcularon los porcentajes teóricos esperados de cada catión en función de las formulaciones de cada variante (Tabla 8). Los datos de sodio teórico se han calculado tomando el 100 % como el valor obtenido en la V-1 correspondiente a cada etapa (1,04 % Na para salado; 1,19 % Na para postsalado y 1,64 % Na para curado). Para el potasio, se ha considerado que el porcentaje añadido se corresponde con el valor obtenido en la variante 2 menos el de la variante 1, que no incluye potasio en su formulación y a partir de este dato se han calculado los porcentajes.

Tabla 8. Seguimiento del contenido de cationes en jamón graso en tina en las diferentes etapas del proceso de curación

Variante	Parámetro					
	Sodio (%)			Potasio (%)		
	Promedio real	SD	Promedio teórico	Promedio real	SD	Promedio teórico
Etapa salado						
V-1	1,04	0,06	1,04	0,33	0,02	0,33
V-2	0,50	0,09	0,72	0,65	0,04	0,65
V-3	0,47	0,12	0,57	0,65	0,11	0,81
Etapa postsalado						
V-1	1,19	0,16	1,19	0,57	0,06	0,57
V-2	0,74	0,08	0,83	1,00	0,06	1,00
V-3	0,79	0,08	0,65	1,15	0,10	1,22
Etapa curado						
V-1	1,64	0,15	1,64	0,92	0,10	0,92
V-2	1,39	0,14	1,15	1,11	0,17	1,11
V-3	1,14	0,08	0,90	1,28	0,10	1,21

En la etapa de salado, en las variantes 2 y 3, para ambos cationes los resultados obtenidos son menores a los teóricos esperados, debido fundamentalmente al mayor contenido de grasa, que provoca una peor difusión de las sales hacia el interior del jamón. En las siguientes etapas, el potasio analizado en el jamón se corresponde con el valor calculado, mientras que para el sodio, a excepción de la variante 2 en la etapa de postsalado, todos los valores son mayores a los esperados, lo mismo ocurre en el estudio realizado en jamón magro en bandeja. Estas diferencias son aún más apreciables al final del proceso de curación.

La variante 3 contiene en su formulación menos potasio que sodio. Sin embargo, el potasio analizado en el jamón al final de las etapas de postsalado y curado es mayor, debido a la mayor penetrabilidad de este ion.

En la Figura 7 se representa la distribución del sodio y potasio mediante un diagrama de cajas (Box-Plot), que permite comparar gráficamente el comportamiento de ambas variables en las diferentes variantes empleadas en el estudio. En el diagrama se aprecia que en las etapas de salado y postsalado, el contenido de potasio de las variantes 2 y 3 es mayor al de sodio, lo que indica la mayor penetrabilidad del ion K^+ con respecto al Na^+ . Sin embargo, al final del proceso de curación los porcentajes obtenidos para ambos cationes son congruentes con los inicialmente añadidos, a excepción de la variante 3 donde el contenido de potasio, debido a su mejor difusión, es mayor al de sodio.

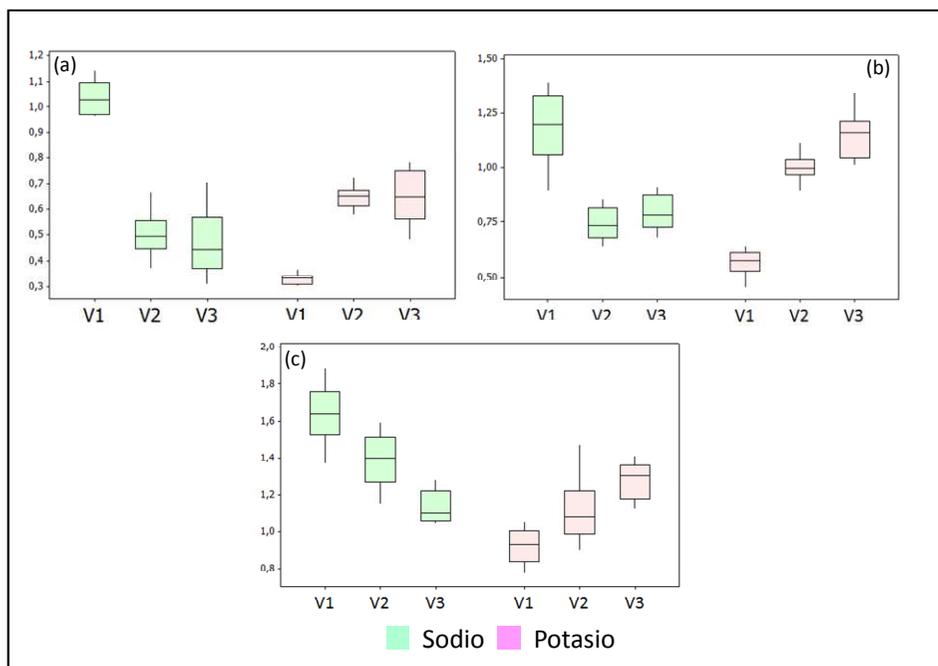


Figura 7. Box-Plot de sodio y potasio en las tres variantes de las diferentes etapas: (a) salado, (b) postsalado y (c) curado

3.2.2 Control de otros parámetros implicados en el proceso de curación del jamón con reducción de sodio

Estudio actividad proteolítica

Los promedios y desviaciones estándar de los valores del índice de proteólisis (% IP) se muestran en la Tabla 9, habiendo eliminado los valores anómalos mediante la Prueba de la Q de Dixon. Los valores de N_T , NNP e IP obtenidos para los grupos de muestras de diez jamones de cada variante en las dos etapas estudiadas se presentan en el Anexo 3.2 (las muestras eliminadas para el cálculo de las medias están marcadas con un asterisco).

Tabla 9. Resultados de las analíticas de índice de proteolisis de muestras de magro de jamones grasos en tina a los 120 días de postsalado y al final de curación

Etapa	Variante 1		Variante 2		Variante 3	
	IP (%) promedio	SD	IP (%) promedio	SD	IP (%) promedio	SD
Postsalado	9,2	1,3	9,3*	0,5	9,2	1,3
Curado	16,6*	3,1	17,2*	2,9	17,4*	1,4

*Valor promedio eliminando datos anómalos con la Prueba de la Q de Dixon

Los mayores valores de IP se encuentran al final del proceso de curación, al igual que ocurre para el jamón magro. Sin embargo, en el caso del jamón graso estos valores en ambas etapas son superiores a los obtenidos para el jamón magro, debido al mayor índice de grasa, que enlentece la difusión de la sal, lo que da lugar a una mayor actividad proteolítica.

Los índices obtenidos para cada variante, tanto en postsalado como al final de curación, son muy similares, por tanto la actividad proteolítica no se ve afectada por la sustitución parcial de sodio por potasio. Los ANOVA de los datos obtenidos para las cuatro variantes en cada etapa por separado, no mostraron diferencias significativas entre ellos.

Estudio de los parámetros físico-químico analizados

En la Tabla 10 se representan los valores promedios de los diez jamones analizados para cada una de las variantes en las 3 etapas del proceso de curación. Las medias se calcularon después de rechazar los datos identificados como anómalos mediante la Prueba de Dixon.

En el Anexo 3.2 se muestran los datos analíticos de los parámetros físico-químicos obtenidos de las muestras de jamones grasos en tina (los valores anómalos están marcados con un asterisco).

Tabla 10. Resumen de los promedios de muestras de magro con las tres formulaciones en las tres etapas

Variante	Parámetro									
	Humedad (%)		Grasa (%)		Proteína (%)		Actividad de agua (a _w)		Cloruro de sodio (%)	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
Etapa salado										
V-1	64,25	1,02	10,38	1,81	-	-	0,98	0,01	2,65	0,23
V-2	64,90	1,42	9,43	2,13	-	-	0,99	0,01	1,91	0,26
V-3	65,07	2,06	8,86	1,67	-	-	0,99	0,01	1,75	0,37
Etapa postsalado										
V-1	50,04	0,99	14,02*	2,26	24,62	1,68	0,92	0,02	3,58	0,43
V-2	50,77	1,45	13,86	1,30	23,81	1,98	0,92	0,01	2,84*	0,05
V-3	49,26	1,23	13,93	1,95	25,75	1,34	0,93	0,01	3,25	0,69
Etapa curado										
V-1	43,09	1,94	15,58	2,22	31,63	2,66	0,89	0,01	4,89	0,48
V-2	43,54	1,94	15,66	2,19	34,87*	2,05	0,89	0,01	3,89*	0,49
V-3	42,78	1,57	15,96	2,64	33,52*	1,94	0,89	0,02	4,25	0,58

*Valor promedio eliminando datos anómalos con la Prueba de la Q de Dixon

Independientemente de las formulaciones de las variantes empleadas, los valores de los parámetros analizados siguen el desarrollo esperado durante el proceso de curación del jamón, a excepción de la humedad y la actividad de agua que van disminuyendo a medida que avanza el secado de las piezas. Los demás parámetros analizados, grasa, proteína y cloruros, van incrementándose.

Los ANOVA de cada parámetro en cada etapa del proceso no detectaron diferencias significativas entre variantes, a excepción de los cloruros en las etapas de salado y curado, cuyos valores F son bastante superiores al valor crítico (Tabla 11) y la P inferior a 0,05. En la etapa de postsalado tanto los valores F como P se encuentran en el límite.

Tabla 11. Estadísticos F y P obtenidos de los ANOVA para el parámetro cloruro de sodio en las tres etapas del proceso

Etapa	F crítica	F	P
Salado	3,35	26,96	0,00
Postsaldo	3,88	3,87	0,05
Curado	3,35	10,39	0,00

La Prueba LSD indica que la variante 1 o control es la que presenta las diferencias con las otras dos variantes, siendo éstas significativas. La diferencias entre las medias de la variante 1 con respecto a la variante 2 en las etapas de salado y curado son respectivamente 0,744 y 1,104, frente a un valor de LSD calculado de 0,268. En el caso de la variante 1 y 3, las diferencias entre medias para ambas etapas son 0,898 y 0,641, frente a una LSD de 0,499. Con lo que se afirma que el parámetro cloruro de sodio se ve afectado por las diferentes formulaciones del cloruro.

Estudio microbiológico

Se llevó a cabo un recuento de enterobacterias, lactobacilos y flora aerobia para analizar si la reducción de sodio afectaba al crecimiento de estos microorganismos. Se evaluó la estabilidad microbiológica durante el proceso de elaboración y la vida útil del producto.

Estabilidad microbiológica de los jamones magros durante el proceso de elaboración

Los análisis realizados indican que el producto al final del proceso de curación no supera los límites establecidos por la legislación vigente (Figura 8).

- Recuentos totales iniciales altos, que disminuyen con el tiempo de curación a medida que disminuye la actividad de agua del producto.

- Recuentos de enterobacterias iniciales (salazón) elevados. Esto puede ser debido a que la calidad microbiológica de la sal en tina es peor que en bandeja, debido a una mayor contaminación, no obstante a pesar de que persiste más en el tiempo, desaparece al final del curado.
- Los Lactobacilos muestran un comportamiento más o menos constante durante todas las fases del proceso sin alcanzar valores elevados.
- No aparecen patógenos como *Listeria*, *Salmonella* o *S. aureus* en ninguna fase del proceso, lo que indica que el producto es seguro desde el punto de vista microbiológico.

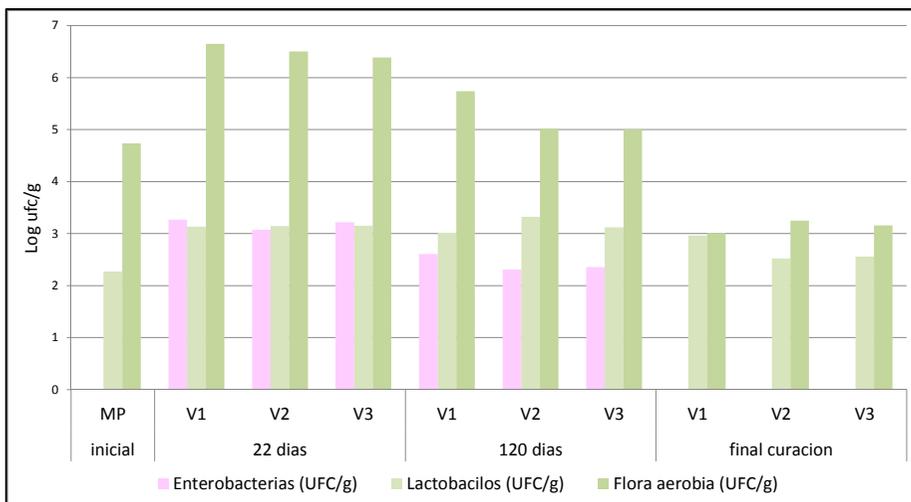


Figura 8. Evolución del crecimiento microbiano durante el proceso de elaboración de jamón curado con reducción de sal con las tres formulaciones

Estabilidad microbiológica de los jamones magros durante su vida útil (Challenge Test)

Al igual que en el estudio de los jamones magros en bandeja, las curvas de crecimiento obtenidas de los microorganismos patógenos inoculados son siempre descendentes (Figura 9). Por tanto, controlando las condiciones de temperatura

durante su almacenamiento, los jamones obtenidos se mantienen estables en el tiempo.

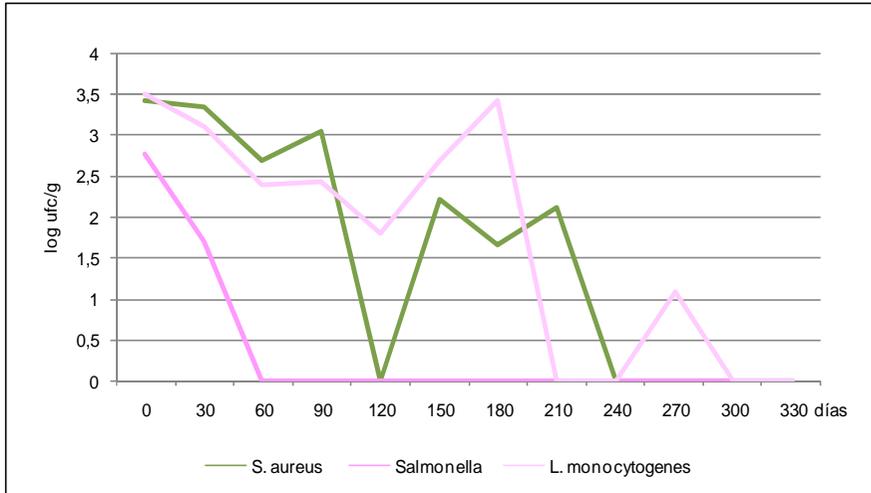


Figura 9. Evolución de microorganismos patógenos durante la vida útil de jamón curado con reducción de sodio

Evaluación sensorial

Se valoraron organolépticamente las muestras de jamón elaboradas con la mezcla de sales de las tres formulaciones. De acuerdo con la información facilitada por la empresa, se apreciaron algunas diferencias entre ellas aunque, en general, los resultados fueron satisfactorios, no mostrándose diferencias en sabor, color y textura con los productos elaborados de forma tradicional.

3.2.3 Evaluación de los parámetros implicados en el proceso de reducción de sal mediante la tecnología NIRS

Se llevaron a cabo calibraciones para los parámetros más significativos en el estudio de la evolución del proceso de curación con sustitución parcial de sodio por sales de potasio de jamón graso en tina.

Para el desarrollo de las calibraciones se utilizaron treinta muestras pertenecientes a las tres variantes en dos etapas del proceso: postsalado y curado, un total de sesenta muestras. En la Tabla 12 se presentan los rangos de los parámetros y los estadísticos descriptivos, diferenciando entre las dos etapas, aunque se emplearon todos los valores para la construcción de los modelos.

Tabla 12. Resumen estadístico de los análisis físico-químicos

Parámetro	Etapas	Promedio	Rango	SD ^a	CV% ^b
Humedad (%)	Postsalado	50,62	47,61-52,62	1,31	2,59
	Curado	43,14	39,39-45,68	1,79	4,15
Grasa (%)	Postsalado	14,77	11,74-26,44	3,62	24,51
	Curado	15,73	11,28-19,73	2,28	14,49
Proteína (%)	Postsalado	24,73	20,31-28,00	1,82	7,36
	Curado	33,30	27,37-40,00	2,98	8,95
Actividad de agua (a _w)	Postsalado	0,92	0,90-0,94	0,01	1,09
	Curado	0,89	0,86-0,92	0,01	1,12
Cloruro de sodio (%)	Postsalado	3,25	2,49-4,11	0,54	16,62
	Curado	4,31	2,85-5,84	0,70	16,24
Sodio (%)	Postsalado	0,91	0,64-1,40	0,26	28,57
	Curado	1,39	1,05-1,89	0,25	17,99
Potasio (%)	Postsalado	0,91	0,45-1,35	0,24	26,37
	Curado	1,10	0,77-1,48	0,19	17,27
Nitrógeno (%)	Postsalado	3,96	3,25-4,48	0,29	7,32
	Curado	5,33	4,38-6,40	0,48	9,01
Índice de proteólisis (%)	Postsalado	9,21	6,80-11,21	1,10	11,94
	Curado	17,12	11,50-20,70	2,30	13,43

^a SD, desviación estándar.

^b CV, coeficiente de variación (SD * 100/promedio).

El análisis espectroscópico se llevó a cabo por dos vías, mediante reflectancia, tomando espectros a 32 y 64 barridos y en modo transmitancia a 32 barridos (Figura 10).

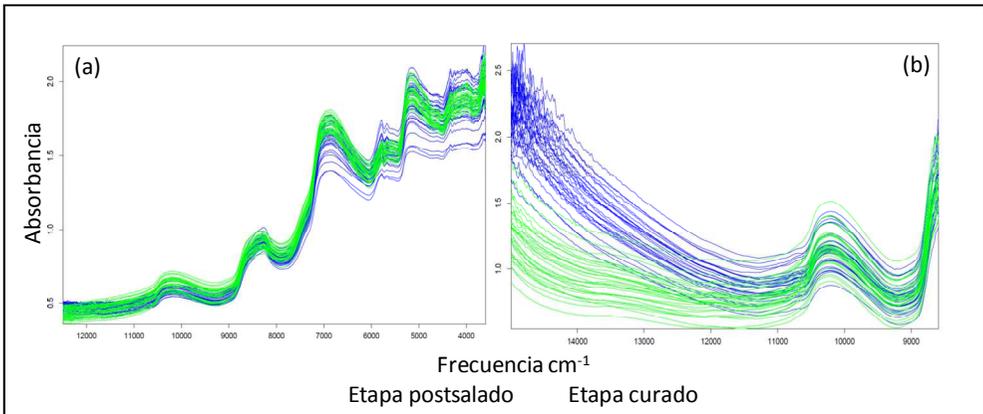


Figura 10. Espectros NIR a 32 barridos de las muestras de jamón graso en las etapas de postsalado y curado: (a) modo reflectancia y (b) modo transmitancia

Al igual que en el caso del jamón magro, el PCA de los espectros tomados en modo reflexión muestra una clara separación entre las muestras pertenecientes a las diferentes etapas. También se aprecia separación entre ambos grupos, aunque no tan pronunciada, con los espectros medidos en transmitancia (Figura 11).

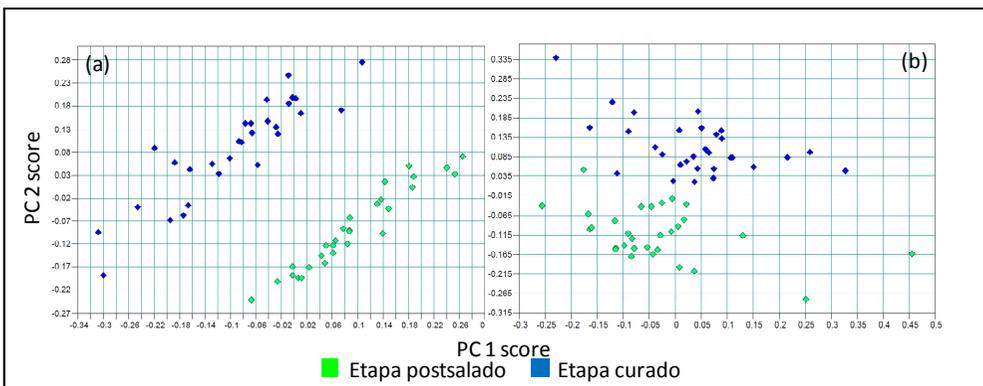


Figura 11. Gráfico de puntuación de los componentes principales PC1 y PC2. (a) Modo reflexión y (b) Modo transmitancia

A pesar de que en el estudio llevado a cabo con jamón magro los modelos de calibración empleando los espectros medidos en transmitancia no dieron mejores resultados que con los espectros medidos en reflexión, se han construido calibraciones empleando ambos tipos de espectros para los parámetros: humedad, grasa, proteína, actividad de agua, cloruro de sodio, sodio, potasio, nitrógeno e índice de proteólisis (Tabla 13).

El conjunto de calibración estaba compuesto por las muestras correspondientes a las tres variantes pertenecientes a las etapas de postsalado y curado. Cada grupo por separado contenía muy pocas muestras y por tanto, los resultados de los modelos empleando solo las muestras de un grupo no serían fiables. Se decidió juntar ambos grupos debido a los resultados obtenidos del PCA, donde se apreciaba una clara diferenciación entre ellos.

Entre todos los modelos construidos los mejores ajustes que obtienen menores errores de predicción son aquellos que emplean los espectros medidos en modo reflexión, y mejora el resultado al aumentar el número de barridos de 32 a 64.

Los mejores ajustes se obtienen para los parámetros humedad y proteína donde los coeficientes de determinación en validación cruzada son 99,1 % y 88,7 %, respectivamente. También se obtienen buenos ajustes para la actividad de agua e índice de proteólisis con coeficientes R^2_{cv} de 85,8 % y 84,4 %, respectivamente. Para los parámetros cloruro de sodio y nitrógeno total se obtienen ajustes aceptables con R^2_{cv} muy próximos al 80 %. Para el parámetro grasa el ajuste es inferior al 70 %, concretamente con R^2_{cv} del 66,2 %.

En todos los casos los errores de predicción son superiores a los errores propios de método de referencia. En el caso de los parámetros humedad e IP el error de validación cruzada es inferior a 1,5 veces el SEL, lo que indica una excelente precisión. El resto de parámetros no superan el doble del valor de SEL. En cuanto

a las diferencias entre los errores de calibración y validación cruzada para todos los parámetros son inferiores al 20 %, lo que no supone una diferencia significativa en las ecuaciones de los modelos.

La capacidad predictiva de los modelos (RPD) desarrollados para humedad es la más alta, con un valor de 10,4. En los modelos construidos para proteína, actividad de agua e IP, los valores RPD obtenidos son superiores a 2,5, por lo que dichos modelos son aptos para el cribado de las muestras (screening). El resto de los parámetros presentan modelos cuya RPD es próximo o inferior a 2, lo que indica que se precisa de un mayor conjunto de muestras de calibración para obtener una capacidad de predicción fiable.

Evaluación del seguimiento del proceso de curación del jamón con contenido reducido en sodio mediante tecnología NIRS

Tabla 13. Resultados de calibración y validación cruzada

Parámetro	Método de referencia	Condiciones de medida		Calibración						Validación cruzada		
	SEL	Método de medida NIR	Nº Barridos	Nº muestras calibración	Rango de frecuencias (cm ⁻¹)	Pre-Procesamiento	Factores PLS	R ²	RMSEC	R ² cv	RMSECV	RPD
Humedad (%)	0,58	Reflexión	64	58	9.404-5.446	CDM	9	99,87	0,64	99,07	0,80	10,40
			32	59	9.404-7.498	n.d.e.p.	7	99,23	0,78	98,76	0,91	8,97
		Transmitancia	32	60	9.406-8.655	n.d.e.p.	7	97,03	1,51	94,25	1,96	4,17
Grasa (%)	0,63	Reflexión	64	51	8.455-7.498	SLR	1	69,56	1,20	66,20	1,24	1,72
			32	51	8.455-7.498 5.778-5.446	SLR	1	67,67	1,24	63,96	1,28	1,67
		Transmitancia	32	51	9.406-8.655	EDC	1	64,21	2,64	61,05	2,74	1,53
Proteína (%)	0,88	Reflexión	64	59	9.404-5.446	1ª d.+SLR	6	94,17	1,33	88,70	1,67	2,98
			32	60	9.404-7.498	SNV	5	90,08	1,64	85,86	1,85	2,66
		Transmitancia	32	59	9.406-8.655	1ª d.	4	76,82	2,39	69,23	2,64	1,80
Actividad de agua (a _w)	0,003	Reflexión	64	55	9.404-6.094 5.454-4.243	1ª d.+SNV	6	94,24	0,005	85,83	0,006	2,66
			32	55	9.404-7.498 6.102-5.446	CDM	3	87,99	0,006	84,73	0,007	2,56
		Transmitancia	32	44	9.406-8.655	N mín-máx	3	73,54	0,01	62,82	0,012	1,64
Cloruro de sodio (%)	0,17	Reflexión	64	57	9.404-7.498 6.102-5.446 4.605-4.243	SNV	7	87,63	0,27	78,78	0,32	2,17
			32	57	9.404-4.598	SLR	8	85,68	0,30	75,37	0,36	2,02
		Transmitancia	32	58	9.406-8.655	1ª d.+SNV	5	75,26	0,57	65,55	0,58	1,95

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetro	Método de referencia	Condiciones de medida		Calibración						Validación cruzada		
	SEL	Método de medida NIR	Nº Barridos	Nº muestras calibración	Rango de frecuencias (cm ⁻¹)	Pre-Procesamiento	Factores PLS	R ²	RMSEC	R ² cv	RMSECV	RPD
Sodio (%)	0,09	Reflexión	64	60	9.404-7.498 6.102-4.243	SNV	4	77,11	0,17	73,34	0,17	1,94
			32	60	9.404-6.094 5.454-4.243	CDM	8	93,20	0,14	71,71	0,18	1,88
		Transmitancia	32	60	9.406-9.026	n.d.e.p.	3	54,72	0,23	47,95	0,24	1,39
Potasio (%)	0,08	Reflexión	64	56	7.506-5.446	n.d.e.p.	7	82,56	0,12	63,50	0,15	1,66
			32	56	9.404-7.498 6.102-5.446	2ª d.	4	77,44	0,13	60,25	0,17	1,59
		Transmitancia	32	59	9.406-9.026	1ª d.	1	52,68	0,23	46,02	0,24	1,14
Nitrógeno (%)	0,25	Reflexión	64	55	7.506-4.598	SLR	2	79,41	0,48	76,79	0,50	2,08
			32	55	7.506-4.598	SLR	2	79,70	0,48	77,06	0,49	2,09
		Transmitancia	32	57	9.406-9.026	n.d.e.p.	3	76,27	0,51	72,28	0,53	1,90
Índice de proteolisis (%)	1,33	Reflexión	64	60	9.404-7.498 6.102-4.243	N mín-máx	10	95,52	1,38	84,36	1,70	2,53
			32	60	9.404-6.094 4.605-4.243	N mín-máx	7	88,89	1,54	81,62	1,84	2,33
		Transmitancia	32	58	9.406-8.655	CDM	3	77,39	2,13	69,96	2,36	1,82

CDM: Corrección de Dispersión Multiplicativa, SLR: Sustracción de Línea Recta, EDC: Elevación de Desnivel Constante, 1ª d.: Primera derivada, SNV: Normalización Vectorial, N mín-máx.: Normalización mínimo- máximo, 2ª d.: Segunda derivada, n.d.e.p.: No hay datos espectrales preprocesados, R²: Coeficiente de determinación en calibración, RMSEC: Error de predicción calibración, R²cv: Coeficiente de determinación en validación cruzada, RMSECV: Error de predicción en validación cruzada, RPD: Desviación residual de predicción, SEL: Error estándar de duplicados.

Al igual que se llevó a cabo en el estudio para el jamón magro con el objetivo de mejorar los modelos para la determinación de los parámetros sodio y potasio, se desarrollaron nuevos modelos empleando diferentes combinaciones de las variantes, considerando el contenido de cada catión en la formulación empleada en cada una de ellas (Tabla 14).

En el caso del sodio, en un principio, se tomaron las muestras correspondientes a la variante 1 por contener únicamente sodio en su formulación. El modelo así desarrollado mejora el ajuste pasando de un R^2_{cv} de 73 % al 88 %. Si se incluye la variante 2 que contiene un porcentaje elevado de sodio aumenta el valor de R^2_{cv} al 92 %. Los errores de predicción obtenidos en estos dos últimos casos (0,09 y 0,10 % Na) son similares al SEL del método de referencia (0,09 % Na).

En el caso del potasio también mejora el modelo cuando excluimos la variante 1 que no contiene potasio en su formulación (Tabla 14). Cuando se emplean las muestras de las variantes 2 y 3, el valor de R^2_{cv} es del 63 % frente al 74 % potasio obtenido con las tres variantes y el error RMSECV es de 0,09 frente a 0,15 % K. Los modelos no mejoran cuando consideramos únicamente la variante 3 que contiene un mayor porcentaje de potasio, probablemente debido al número tan pequeño de muestras empleadas en la construcción del modelo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 14. Comparación de modelos de predicción para sodio y potasio en función de las variantes de las muestras del conjunto de calibración

Parámetro	Método de referencia	Condiciones de medida		Variante	Calibración					Validación cruzada						
	SEL	Método de medida NIR	Nº Barridos		Nº muestras calibración	Rango de frecuencias (cm ⁻¹)	Pre-Procesamiento	Factores PLS	R ²	RMSEC	R ² _{cv}	RMSECV	RPD			
Sodio (%)	0,09	Reflexión	64	V- 1/ V-2/ V-3	60	9.404-7.498 6.102-4.243	SNV	4	77,11	0,17	73,34	0,17	1,94			
				V- 1/ V-2	40	8.455-7.498 6.102-5.446	CDM	8	99,14	0,04	91,56	0,10	3,44			
				V- 1	20	6.102-5.446	N mín-máx	9	99,92	0,01	88,17	0,09	2,91			
			32	V- 1/ V-2/ V-3	60	9.404-6.094 5.454-4.243	CDM	8	93,20	0,09	71,71	0,18	1,88			
				V- 1/ V-2	40	9.404-7.498 6.102-4.243	CDM	6	93,10	0,10	84,21	0,14	2,52			
				V- 1	20	6.480-5.446 4.606-4.420	n.d.e.p.	5	91,49	0,09	74,36	0,14	1,98			
			Transmitancia	32	V- 1/ V-2/ V-3	60	9.404-9.026	n.d.e.p.	3	54,72	0,23	47,95	0,24	1,39		
					V- 1/ V-2	40	9.404-8.655	1ª d.+ CDM	3	74,38	0,19	64,25	0,21	1,67		
					V- 1	19	9.404-8.655	1ª d.+ CDM	1	81,95	0,11	77,89	0,12	2,13		
			Potasio (%)	0,08	Reflexión	64	V- 1/ V-2/ V-3	56	7.506-5.446	n.d.e.p.	7	82,56	0,11	63,50	0,15	1,66
							V-2/ V-3	36	4.606-4.243	1ª d.	12	95,14	0,05	73,64	0,09	1,96
							V-3	17	7.506-5.445	n.d.e.p.	1	34,05	0,10	11,96	0,11	1,07
32	V- 1/ V-2/ V-3	56			9.404-7.498 6.102-5.446	2ª d.	4	77,44	0,13	60,25	0,17	1,59				
	V-2/ V-3	40			9.404-8.447 6.102-5.446 4.606-4.420	2ª d.	9	97,92	0,03	66,07	0,11	1,72				
	V-3	20			6.102-4.598	2ª d.	6	96,95	0,04	31,91	0,14	1,21				
Transmitancia	32	V- 1/ V-2/ V-3			59	9.406-9.026	1ª d.	1	52,68	0,23	46,02	0,24	1,14			
		V-2/ V-3			39	9.404-8.655	1ª d.	1	69,56	0,20	59,02	0,19	1,53			
		V-3			20	9.404-8.655	2ª d.	1	73,53	0,17	65,88	0,17	1,86			

En la representación gráfica del modelo óptimo obtenido para cada parámetro, se observa la agrupación de las muestras en función de la etapa a la que corresponden (Figura 12). Los resultados corroboran el obtenido en PCA.

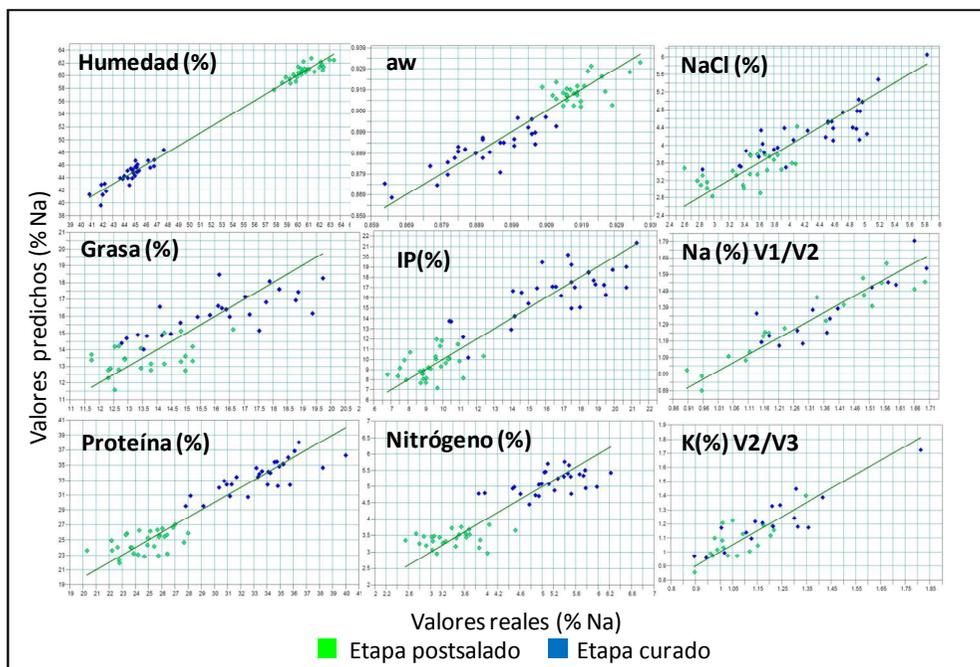


Figura 12. Gráficos de predicción NIR: Valores predichos frente a reales para los diferentes parámetros

Al igual que en el jamón magro, los modelos de calibración NIR obtenidos en muestras de jamón graso son adecuados para llevar el seguimiento de los parámetros implicados en el proceso de curación del jamón. No obstante, se requiere de un conjunto mayor de muestras para mejorar la precisión y que puedan ser utilizados con garantía en el seguimiento de los procesos industriales de reducción de sal.

4. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO

1. El proceso de curación de jamón de contenido reducido en sodio se realiza para dos tipos de jamones, magro en bandeja y graso en tina. Dicho proceso se lleva a cabo mediante sustitución parcial de cloruro de sodio por diferentes mezclas de sales con otros cationes, concretamente cloruro de potasio, calcio y magnesio. Las pruebas realizadas nos indican, que se pueden conseguir jamones con reducción de sodio, incluso superiores al 25 %, sin alteración microbiana ni proteolítica y con una textura, sabor y olor adecuados.
2. Los modelos de calibración desarrollados mediante tecnología NIRS durante el proceso de producción del jamón magro curado en bandeja, permiten determinar con precisión los parámetros, humedad y proteína, lográndose una capacidad predictiva de 5,8 y 3,4 respectivamente. Los parámetros actividad de agua, cloruro de sodio y nitrógeno, presentan una menor capacidad predictiva (2,5 %, 2,4 % y 2,3 %, respectivamente).
3. Las calibraciones para el jamón graso consiguen buenas capacidades predictivas para los parámetros proteína, actividad de agua e índice de proteólisis, con valores comprendidos entre 2,5 y 3. Para el parámetro humedad se alcanza un valor de 10,4.
4. Los modelos de predicción para los iones sodio y potasio se ven influenciados por las sales empleadas en la curación de las muestras perteneciente al conjunto de calibración.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AECOSAN, 2014. http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/web/notas_prensa/jornada_reduccion_sal.shtml

Aliño, M., Grau, R., Fuentes, A. & Barat, J. M. (2010). Influence of low-sodium mixtures of salts on the post-salting stage of dry-cured ham process. *Journal of food engineering*, 99(2), 198-205. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.02.020.

Aliño, M., Grau, R., Toldrá, F., & Barat, J. M. (2010). Physicochemical changes in dry-cured hams salted with potassium, calcium and magnesium chloride as a partial replacement for sodium chloride. *Meat science*, 86(2), 331-336. doi:10.1016/j.meatsci.2010.05.003.

Aliño, M., Grau, R., Toldrá, F., Blesa, E., Pagán, M. J., & Barat, J. M. (2009). Influence of sodium replacement on physicochemical properties of dry-cured loin. *Meat Science*, 83(3), 423-430. doi:10.1016/j.meatsci.2009.06.022.

Armenteros, M., Aristoy, M. C., Barat, J. M., & Toldrá, F. (2009a). Biochemical and sensory properties of dry-cured loins as affected by partial replacement of sodium by potassium, calcium, and magnesium. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(20), 9699-9705. doi:10.1021/jf901768z.

Armenteros, M., Aristoy, M. C., Barat, J. M., & Toldrá, F. (2009b). Biochemical changes in dry-cured loins salted with partial replacements of NaCl by KCl. *Food Chemistry*, 117(4), 627-633. doi:10.1016/j.foodchem.2009.04.056.

Armenteros, M., Aristoy, M. C., Barat, J. M., & Toldrá, F. (2012). Biochemical and sensory changes in dry-cured ham salted with partial replacements of NaCl by other chloride salts. *Meat science*, 90(2), 361-367. doi:10.1016/j.meatsci.2011.07.023.

Arnau, J., Guerrero, L., & Sárraga, C. (1998). The effect of green ham pH and NaCl concentration on cathepsin activities and the sensory characteristics of dry-cured hams. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(3), 387-392. Doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(199807)77:3<387::AID-JSFA57>3.0.CO;2-H.

Benedini, R., Parolari, G., Toscani, T., & Virgili, R. (2012). Sensory and texture properties of Italian typical dry-cured hams as related to maturation time and salt content. *Meat science*, 90(2), 431-437. doi:10.1016/j.meatsci.2011.09.001.

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), 135-142. doi:10.1016/j.meatsci.2007.07.008.

Buemi, M., Senatore, M., Corica, F., Aloisi, C., Romeo, A., Tramontana, D., & Frisina, N. (2002). Diet and arterial hypertension: Is the sodium ion alone important?. *Medicinal research reviews*, 22(4), 419-428. doi:10.1002/med.10013.

Careri, M., Mangia, A., Barbieri, G., Bolzoni, L., Virgili, R., & Parolari, G. (1993). Sensory property relationships to chemical data of Italian-type dry-cured ham. *Journal of food science (USA)*. Doi:10.1111/j.1365-2621.1993.tb06090.x.

Centers for Disease Control and Prevention, 2009. [http:// www.cdc.gov/nchs /data/09.pdf](http://www.cdc.gov/nchs/data/hus/09.pdf)

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. doi:10.1016/j.foodchem.2011.04.073.

Conzen, J. P. (2006). *Multivariate calibration, a practical guide for developing methods in the quantitative analytical chemistry*. Ettlingen, Germany: BrukerOptik GmbH.

- Cordero, M. R., & Zumalacárregui, J. M. (2000). Characterization of Micrococcaceae isolated from salt used for Spanish dry-cured ham. *Letters in applied microbiology*, 31(4), 303-306. doi: 10.1046/j.1472-765x.2000.00818.x.
- Dean, R. B., & Dixon, W. J. (1951). Simplified statistics for small numbers of observations. *Analytical Chemistry*, 23(4), 636-638. doi:10.1021/ac60052a025.
- Delgado E. 2003. Caracterización cuantitativa y cualitativa de lomo curado de cerdo ibérico, mediante análisis espectral en el infrarrojo cercano (NIRS). Trabajo profesional fin de carrera. E.T.S de Ingenieros Agrónomos y de Montes. Universidad de Córdoba. España.
- Desmond, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat science*, 74(1), 188-196. doi:10.1016/j.meatsci.2006.04.014.
- Ellekjær, M. R., Hildrum, K. I., Næs, T., & Isaksson, T. (1993). Determination of the sodium chloride content of sausages by near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 1(1), 65-75. doi: <http://dx.doi.org/10.1255/jnirs.7>.
- Fregly, M. J. (1981). Sodium and potassium. *Annual review of nutrition*, 1(1), 69-93. doi:10.1146/annurev.nu.01.070181.000441.
- FSAI, 2011. https://www.fsai.ie/news_centre/press_releases/saltreduction/26102011.html
- García-Garrido, J. A., Quiles-Zafra, R., Tapiador, J., & Luque de Castro, M. D. (2000). Activity of cathepsin B, D, H and L in Spanish dry-cured ham of normal and defective texture. *Meat Science*, 56(1), 1-6. doi:10.1016/S0309-1740(00)00005-X.
- Gelabert, J., Gou, P., Guerrero, L., & Arnau, J. (2003). Effect of sodium chloride replacement on some characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 65(2), 833-839. doi:10.1016/S0309-1740(02)00288-7.

Geleijnse, J. M., Witteman, J. C. M., Bak, A. A. A., Den Breijen, J. H., & Grobbee, D. E. (1994). Reduction in blood pressure with a low sodium, high potassium, high magnesium salt in older subjects with mild to moderate hypertension. *Bmj*, *309*(6952), 436-440. doi:<http://dx.doi.org/10.1136/bmj.309.6952.436>.

Geleijnse, J. M., Witteman, J. C., Stijnen, T., Kloos, M. W., Hofman, A., & Grobbee, D. E. (2007). Sodium and potassium intake and risk of cardiovascular events and all-cause mortality: the Rotterdam Study. *European journal of epidemiology*, *22*(11), 763-770.

Gou, P., Guerrero, L., Gelabert, J., & Arnau, J. (1996). Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. *Meat Science*, *42*(1), 37-48. doi:10.1016/0309-1740(95)00017-8.

Haddy, F. J. (1991). Roles of sodium, potassium, calcium, and natriuretic factors in hypertension. *Hypertension*, *18* (5 Suppl), III179.

Hand, L. W., Terrell, R. N., & Smith, G. C. (1982). Effects of chloride salts on physical, chemical and sensory properties of frankfurters. *Journal of Food Science*, *47*(6), 1800-1802. doi: 10.1111/j.1365-2621.1982.tb12886.x.

Harkouss, R., Astruc, T., Lebert, A., Gatellier, P., Loison, O., Safa, H. & Mirade, P. S. (2015). Quantitative study of the relationships among proteolysis, lipid oxidation, structure and texture throughout the dry-cured ham process. *Food chemistry*, *166*, 522-530. doi:10.1016/j.foodchem.2014.06.013.

Harkouss, R., Mirade, P. S., & Gatellier, P. (2012). Development of a rapid, specific and efficient procedure for the determination of proteolytic activity in dry-cured ham: Definition of a new proteolysis index. *Meat science*, *92*(2), 84-88. doi:10.1016/j.meatsci.2012.04.017.

He, F. J., & MacGregor, G. A. (2010). Reducing population salt intake worldwide: from evidence to implementation. *Progress in cardiovascular diseases*, 52(5), 363-382. doi:10.1016/j.pcad.2009.12.006.

Jee, S. H., Miller, E. R., Guallar, E., Singh, V. K., Appel, L. J., & Klag, M. J. (2002). The effect of magnesium supplementation on blood pressure: a meta-analysis of randomized clinical trials. *American journal of hypertension*, 15(8), 691-696. doi:10.1016/S0895-7061(02)02964-3.

Keeton, J. T. (1984). Effects of Potassium Chloride on Properties of Country-Style Hams. *Journal of food science*, 49(1), 146-148. doi:10.1111/j.1365-2621.1984.tb13692.x.

Kerese, I. (1984). *Methods of protein analysis*. John Wiley & Sons Ltd.

Kimura, M., Lu, X., Skurnick, J., Awad, G., Bogden, J., Kemp, F., & Aviv, A. (2004). Potassium chloride supplementation diminishes platelet reactivity in humans. *Hypertension*, 44(6), 969-973. doi: 10.1161/01.HYP.0000147660.58694.6f.

Lecos, C. (1983). Potassium: Keeping a delicate balance. *FDA Consumer. Food and Drug Administration (USA)*.

Linas, S. L. (1991). The role of potassium in the pathogenesis and treatment of hypertension. *Kidney international*, 39(4), 771-786. doi:10.1038/ki.1991.95

Martin, M. (2001). Meat curing technology. *Meat science and applications*, 491-508.

McCarty, M. F. (2004). Should we restrict chloride rather than sodium?. *Medical hypotheses*, 63(1), 138-148. doi:10.1016/j.mehy.2003.11.005.

Mizushima, S., Cappuccio, F. P., Nichols, R., & Elliott, P. (1998). Dietary magnesium intake and blood pressure: a qualitative overview of the observational studies. *Journal of human hypertension*, 12(7), 447-453.

Mora Soler, L. (2010). Determinación de compuestos bioquímicos para el control de calidad en la elaboración de jamón cocido y jamón curado (Doctoral dissertation).

Parolari, G., Virgili, R., & Schivazappa, C. (1994). Relationship between cathepsin B activity and compositional parameters in dry-cured hams of normal and defective texture. *Meat Science*, *38*(1), 117-122. doi:10.1016/0309-1740(94)90100-7.

Pérez-Marín, D., Garrido-Varo, A., & Guerrero, J. E. (2007). Non-linear regression methods in NIRS quantitative analysis. *Talanta*, *72*(1), 28-42. doi:10.1016/j.talanta.2006.10.036.

Pojić, M., Mastilović, J., & Majcen, N. (2012). Robustness of the near infrared spectroscopy method determined using univariate and multivariate approach. *Food chemistry*, *134*(3), 1699-1705. doi:10.1016/j.foodchem.2012.03.104.

Reddy, K. A., & Marth, E. H. (1991). Reducing the sodium content of foods: A review. *Journal of food protection*, *54*(2), 138-150.

Ripollés, S., Campagnol, P. C. B., Armenteros, M., Aristoy, M. C., & Toldrá, F. (2011). Influence of partial replacement of NaCl with KCl, CaCl₂ and MgCl₂ on lipolysis and lipid oxidation in dry-cured ham. *Meat science*, *89*(1), 58-64. doi:10.1016/j.meatsci.2011.03.021.

Ruiz-Ramírez, J., Serra, X., Gou, P., & Arnau, J. (2006). Efecto del índice de proteólisis sobre la textura del jamón crudo curado. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, *14*(2), 62-64.

Ruusunen, M., & Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat science*, *70*(3), 531-541. doi:10.1016/j.meatsci.2004.07.016.

SACN, 2003. <https://www.gov.uk/government/publications/sacn-salt-and-health-report>

Sinnaeve, G., Dardenne, P., Agneessens, R., & Biston, R. (1994). The use of near infrared spectroscopy for the analysis of fresh grass silage. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2(2), 79–84. doi: <http://dx.doi.org/10.1255/jnirs.34>.

Toldrá, F., & Flores, M. (1998). The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham. *Critical Reviews in Food Science*, 38(4), 331-352. doi:10.1080/10408699891274237.

Toldrá, F., Aristoy, M., & Flores, M. (2000). Contribution of muscle aminopeptidases to flavor development in dry-cured ham. *Food Research International*, 33(3), 181-185. doi:10.1016/S0963-9969(00)00032-6.

Ventanas, J., & Andrés, A. I. (2001). Tecnología del jamón ibérico.

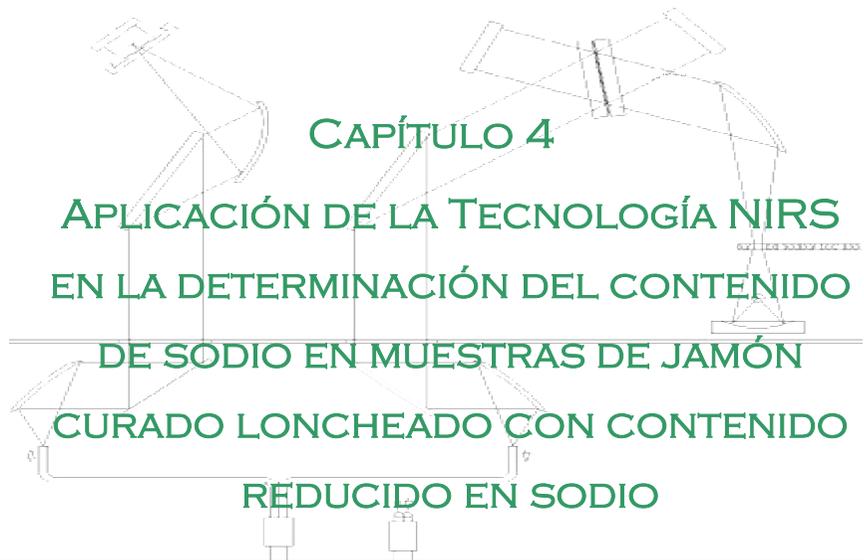
Virgili, R., Parolari, G., Schivazappa, C., Bordini, C. S., & Borri, M. (1995). Sensory and Texture Quality of Dry-Cured Ham as Affected by Endogenous Cathepsin B Activity and Muscle Composition. *Journal of Food Science*, 60(6), 1183-1186. doi: 10.1111/j.1365-2621.1995.tb04551.x.

WHO/FAO (World Health Organization/Food and Agriculture Organisation) (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. WHO technical report series 916. Geneva: World Health Organization.

WHO-EU salt action network <http://www.euro.who.int/en/health-topics/diseaseprevention/nutrition/policy/member-states-action-networks/reducing-salt-intake-in-the-population>;
http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0009/186462/Mapping-salt-reduction-initiatives-in-the-WHO-European-Region.pdf

Wirth, F. (1989). Salting and curing of Kochwurst [sausage made from precooked ingredients] and cooked cured products. *Fleischwirtschaft (Germany, FR)*.

Zhao, G. M., Tian, W., Liu, Y. X., Zhou, G. H., Xu, X. L., & Li, M. Y. (2008). Proteolysis in biceps femoris during Jinhua ham processing. *Meat science*, 79(1), 39-45. doi:10.1016/j.meatsci.2007.07.030.



CAPÍTULO 4

APLICACIÓN DE LA TECNOLOGÍA NIRS EN LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SODIO EN MUESTRAS DE JAMÓN CURADO LONCHEADO CON CONTENIDO REDUCIDO EN SODIO

CONTENIDO

1. ANTECEDENTES	233
2. EXPERIMENTACIÓN	235
2.1 Diseño experimental	235
2.2 Adquisición de espectros	235
2.3 Análisis de referencia	236
2.4 Análisis quimiométrico: Modelos de predicción NIR	236
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	236
3.1 Análisis de referencia	236
3.2 Análisis espectroscópico	237
3.3 Resultados de calibración NIR	239
3.3.1 <i>Validación cruzada</i>	239
3.3.2 <i>Validación externa de las muestras de diferente matriz con el modelo de predicción</i>	240
4. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO	246
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	246

1. ANTECEDENTES

Una de las principales limitaciones en el desarrollo de cualquier procedimiento de calibración es la matriz de las muestras. Los modelos de predicción NIR no pueden ser directamente utilizados para distintos productos cárnicos, debido principalmente a que presentan diferente matriz, e incluso variaciones importantes entre los rangos de los constituyentes (Prevolnik, Povse, Skrlep, Skorjanc & Candek-Potokar, 2012). Para obtener un modelo de predicción del parámetro de interés, es fundamental utilizar muestras que hayan sido sometidas al mismo procesamiento, e incluso, que tengan el mismo origen. La finalidad de una calibración NIR en la mayoría de los casos, es sustituir la determinación analítica convencional, en nuestro caso del parámetro sodio, por un procedimiento que evite el contacto con la muestra, minimice el tiempo de medida y permita cuantificar el contenido de dicho parámetro en cada muestra del producto. Por lo tanto, para instaurar esta nueva aplicación, es imprescindible que las muestras presenten una matriz lo más similar posible y que abarquen todo el rango de variación del parámetro en estudio.

La dependencia de las calibraciones con respecto a la matriz de las muestras alimentarias ha sido estudiada en diferentes trabajos durante más de tres décadas, desde Begley, Lanza, Norris & Hruschka (1984) hasta Prevolnik et al. (2014). A pesar de esta dependencia, se pueden obtener calibraciones de interés sobre todo desde un punto de vista industrial, capaces de sustituir los métodos actualmente utilizados como referentes para las medidas, por métodos NIR que evitan la manipulación de la muestra al utilizar sondas remotas en la cuantificación de los parámetros (Isaksson, Nilsen, Tøgersen, Hammond & Hildrum, 1996; Schwarze, 1996, citado por Tøgersen, Arnesen, Nilsen & Hildrum, 2003).

La aplicación en jamón curado presenta la complejidad añadida de la heterogeneidad de las muestras, ya que en el producto loncheado se utiliza toda la pieza de jamón y por lo tanto en su composición están presentes diferentes músculos. En estudios anteriores, se han desarrollado diferentes calibraciones, pero en la mayoría de los casos se ha empleado un único músculo (García-Rey, García-Olmo, De Pedro, Quiles-Zafra & De Castro, 2005; Pevolnik et al., 2011), en estos supuestos, se consiguieron modelos de predicción con altos coeficientes de correlación y bajos errores de predicción. Incluso Collell, Gou, Arnau & Comaposada (2011), llevaron a cabo un estudio irradiando hasta cuatro zonas próximas, aunque pertenecientes al mismo músculo y tomando el espectro promedio de todas las medidas. En cuanto a trabajos en los que se ha considerado un mayor número de músculos considerados, en 2013, Gou et al. realizaron un estudio sobre tres músculos determinados de la pieza de jamón, modificando también otros parámetros como, procedencia (productores que trabajaban con jamones en crudo de diferentes características) y procesos de curación.

En este trabajo, como se describe en el primer capítulo, se desarrolla una aplicación con interés directo y real para la industria, ya que en la línea de loncheados aparecen muestras de todas y cada una de las partes del jamón (codillo, maza, babilla y punta). Se debe resaltar que al menos todos los jamones son del mismo tipo y han sido procesados en iguales condiciones, empleando el mismo porcentaje de sales en el proceso de salazón. El error de predicción obtenido es muy similar al de los estudios mencionados en el que se utiliza un músculo concreto. En nuestro caso, la mezcla de los diferentes músculos en la calibración se reflejó en una disminución del coeficiente de determinación y, por lo tanto, de la capacidad predictiva del modelo. Una vez tenido en cuenta este efecto, se llevó a cabo un estudio con jamones magros curados con diferente proceso de salazón, jamones salados únicamente con cloruro de sodio o bien con

una mezcla de sales de sodio, potasio, calcio y magnesio en diferentes porcentajes(Capítulo 3), demostrando que las muestras que han sido curadas con un proceso de salazón diferente, sufren una modificación en su matriz y por lo tanto, aparecen localizadas en un grupo ajeno al colectivo inicial de calibración, por lo que los valores de predicción obtenidos fueron diferentes a los medidos por vía húmeda.

2. EXPERIMENTACIÓN

2.1 Diseño experimental

Se realizó el estudio sobre muestras loncheadas de jamones tratados con diferentes sales. Las medidas, tanto espectroscópicas como analíticas, se llevaron a cabo en el Centro Tecnológico CARTIF en una sala independiente, con condiciones de temperatura y humedad análogas a las de la zona de envasado de la empresa Campofrío.

Se seleccionaron varios jamones de las variantes 3 y 4, estudiadas en el capítulo 3, de contenido similar en sodio y potasio, los jamones de la variante 4 incluyen además calcio y magnesio. El proceso de loncheado y envasado para la calibración se hizo de la misma forma que en el proceso industrial. Todas las muestras se congelaron a -12°C hasta realizar la medida NIR.

2.2 Adquisición de espectros

Las medidas espectroscópicas se realizaron por reflectancia con un espectrómetro NIR con transformada de Fourier modelo Matrix-F, equipado con una sonda de emisión Q-412/AF de medición remota de la marca Bruker Optik.

El análisis espectroscópico de las muestras se llevó a cabo directamente sobre la loncha de jamón curado. Se obtuvieron dos espectros de cada muestra a

temperatura T_0 (-12/-10 °C), con una resolución de 16 cm^{-1} y a 16 barridos, empleando 5,01 segundos en cada toma espectral.

2.3 Análisis de referencia

Los análisis, basados en un procedimiento por vía húmeda (Capítulo 1), se hicieron por quintuplicado para cada una de las muestras. Se tomaron las seis primeras medias lonchas de la zona irradiada de cada bandeja, y una vez trituradas y homogenizadas se digirieron con una disolución de HCl-HNO₃ (9:1), seguido de la determinación del sodio por espectrofotometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES), utilizando el equipo 720-ES de Varian. La cuantificación se realizó a partir de líneas de calibrado empleando un patrón de sodio de 1000 ppm, los resultados obtenidos se expresaron en g sodio/100 g de materia húmeda.

2.4 Análisis quimiométrico: Modelos de predicción NIR

Los modelos de calibración se desarrollaron mediante regresión por mínimos cuadrados parciales, empleando el método de validación cruzada.

La capacidad de predicción de los métodos NIR desarrollados se evaluó a partir de la medida del error obtenido en validación cruzada (RMSECV), del coeficiente de determinación (R^2_{cv}) determinado a partir de los valores de referencia (valor real) frente a los valores obtenidos por los modelos NIR desarrollados (valor predicho) y de la capacidad predictiva (RPD).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis de referencia

En la Tabla 1 se recogen los descriptores estadísticos de ambos conjuntos de muestras, las correspondientes al jamón loncheado obtenidas a partir del proceso

habitual de curación que se encuentran en un rango de sodio entre 1,21-3,10 %, y las de jamones curados con contenido reducido en sodio, con un rango comprendido entre 0,79-1,51 %.

Tabla 1. Resumen estadístico de los análisis químicos

Muestras	Nº muestras	Promedio	Rango	SD ^a	CV ^b (%)
100 % sodio	310	1,99	1,21-3,10	0,45	22,81
Reducidas en sodio (P. 3 y 4)	19	0,98	0,79-1,51	0,15	15,17

^aSD, desviación estándar

^bCV, coeficiente de variación (SD * 100/promedio)

3.2 Análisis espectroscópico

En los espectros recogidos no se apreció ninguna diferencia aparente en la forma de los mismos, sin embargo mediante el correspondiente tratamiento quimiométrico, sí somos capaces de discernir el nuevo conjunto de muestras introducido en la calibración de loncha. La Figura 1 muestra el espectro promedio del conjunto de calibración empleado en la construcción del modelo de loncha (100 % Na) y de muestras pertenecientes al estudio de reducción del sodio, pruebas 3 y 4 realizados en las mismas condiciones.

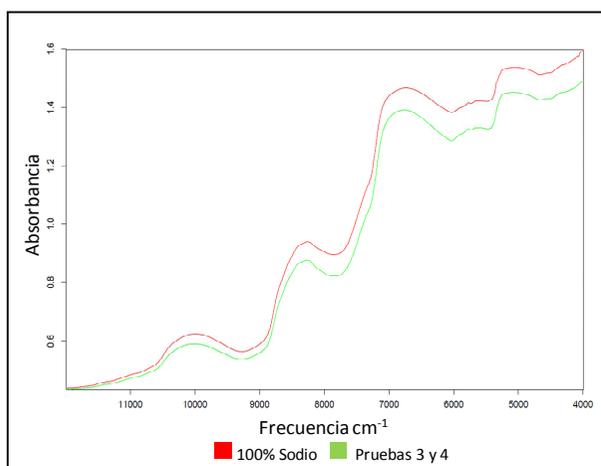


Figura 1. Espectros promedio de las muestras con diferente contenido en sodio (%)

Se realizó un estudio de la primera derivada de los espectros promedio de las muestras reducidas en sodio y de las muestras tratadas solo con NaCl, dentro de este último se eligen a efectos de comparación dos muestras de contenido en sodio muy dispar, N16 (2,97 % Na) y N146 (1,21 % Na). En la Figura 2 se observa a 5.537 cm^{-1} , que los valores obtenidos, correspondientes a la primera derivada, de las muestras curadas con menos sodio, se encuentran en un intervalo que no se corresponde con su concentración.

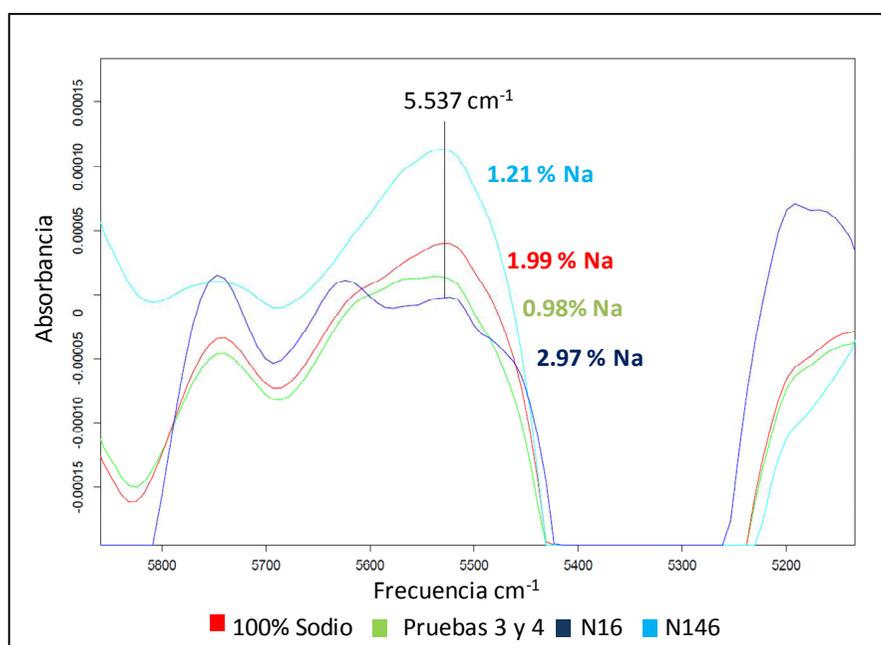


Figura 2. Primera derivada de los espectros promedio de muestras con diferente % en sodio

En la Tabla 2 se muestran los valores de sodio y de la primera derivada de la absorbancia, tal y como se presenta en la Figura 2.

Tabla 2. Contenido de sodio (%) y valor de absorbancia de las muestras con diferente contenido de sodio

Muestras	Sodio (%)	1ª derivada a 5.537cm ⁻¹
N146	1,210	1,128
Promedio set calibración (n=310)	1,990	0,391
Promedio muestras pruebas 3 y 4 (n=19)	0,980	0,141
N16	2,970	0,033

3.3 Resultados de calibración NIR

3.3.1 Validación cruzada

Se realizó la calibración mediante validación cruzada, utilizando todo el conjunto de muestras de producto loncheado (310 muestras) y muestras correspondientes a las pruebas de reducción del contenido de sodio, pruebas 3 y 4. Atendiendo al modelo de predicción que aporta los mejores resultados, se obtuvo un coeficiente de correlación R^2_{cv} de 84,43 %, un RMSECV de 0,19 % Na y una RPD de 2,53. En general se aprecia muy buena concordancia entre los valores obtenidos por el método de referencia (eje x) y los teóricos suministrados por el modelo (eje y), a excepción de las muestras de las pruebas 3 y 4 (Figura 3), la línea representa la relación 1:1 entre los valores x e y.

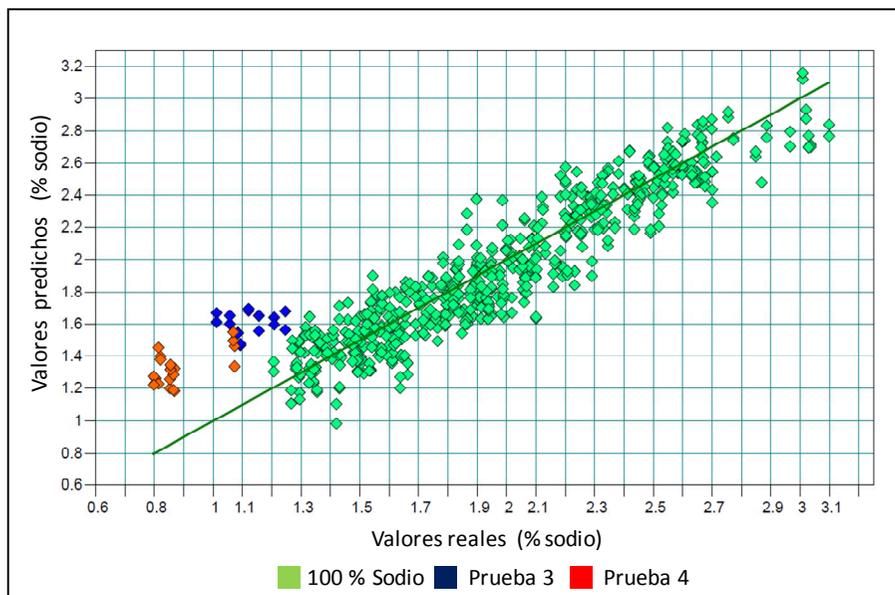


Figura 3. Gráfico de predicción NIR: Valores predichos frente a reales incluyendo las muestras reducidas en sodio

A efectos de los espectros no se detectaron diferencias entre muestras curadas solo con sodio o con mezclas de sodio y potasio, sin embargo, al construir el modelo, como se aprecia en la anterior figura, las muestras de las pruebas 3 y 4 presentaron una clara desviación con respecto al conjunto de calibración. En todas ellas se observó que el valor predicho por el modelo es mayor al real (Tabla 3), esto se debe atribuir a que la muestra ha sido curada utilizando sodio y potasio.

3.3.2 Validación externa de las muestras de diferente matriz con el modelo de predicción

Para corroborar los datos obtenidos mediante validación cruzada, sometimos las muestras reducidas en sodio a un proceso de validación externa, es decir las consideramos un conjunto de muestras independiente del set de calibración.

En la Tabla 3 se muestran los valores obtenidos al aplicar el modelo de calibración del capítulo 1, a las nuevas muestras reducidas en sodio.

Tabla 3. Diferencias entre los valores predichos para el parámetro sodio en validación cruzada y externa y los valores reales de las muestras con contenido reducido en sodio

Muestra	Valor real sodio (%)	Validación Cruzada (% sodio)		Validación Externa (% sodio)	
		Valor predicho	Diferencia valor predicho y real	Valor predicho	Diferencia valor predicho y real
N1	1,21	1,62	0,41	1,76	0,56
N2	1,06	1,61	0,56	1,75	0,69
N3	1,09	1,48	0,38	1,63	0,54
N4	1,12	1,67	0,55	1,80	0,68
N5	1,07	1,40	0,33	1,53	0,45
N6	0,82	1,39	0,57	1,49	0,67
N7	0,85	1,23	0,38	1,37	0,52
N8	0,80	1,18	0,38	1,36	0,55
N9	0,81	1,32	0,51	1,44	0,62
N32	1,25	1,61	0,37	1,79	0,54
N39	1,16	1,61	0,46	1,70	0,54
N40	1,08	1,48	0,40	1,74	0,91
N41	1,01	1,66	0,65	1,78	0,77
N50	0,87	1,28	0,41	1,35	0,49
N51	0,86	1,30	0,43	1,41	0,54
N52	0,80	1,22	0,42	1,37	0,57
N53	0,85	1,31	0,45	1,43	0,58
N55	1,07	1,49	0,42	1,63	0,56

Si comparamos las tablas de los valores predichos mediante validación cruzada (interna) y validación externa, se observa que en el segundo caso los valores son mayores. Esto es debido a que en la validación cruzada dichas muestras pertenecen al colectivo de muestras de calibración, mientras que en la validación externa se presentan como un conjunto totalmente independiente del proceso de calibración seguido.

Para dar una explicación a estas diferencias tan evidentes entre los valores reales y predichos, se llevó a cabo un estudio de los metales que intervienen en el proceso de salazón de los jamones, pues la calibración está basada en los datos de sodio analizado en las muestras, pero hay que tener en cuenta que las lonchas de las pruebas 3 y 4 fueron curadas empleando sustitución parcial del sodio por potasio. En la Tabla 4 se presentan los valores obtenidos del análisis de los metales sodio y potasio, junto con la suma de ambos y los valores predichos tras la validación, empleando la calibración de loncha con los espectros promediados.

Tabla 4. Valores real y predicho del contenido en metales de las muestras curadas con diferentes sales

Muestras	Nº muestras	Valor real			Valor predicho (%)
		Sodio (%)	Potasio (%)	Sodio+Potasio (%)	
Promedio Loncha	310	1,99	-	-	1,96
100% sodio	N16	2,97	-	-	2,75
	N146	1,21	-	-	1,34
Reducidas en sodio	Prueba 3	1,12	1,72	2,85	1,75
	Prueba 4	0,88	1,47	2,35	1,42
	Pruebas 3 y 4	0,99	1,58	2,57	1,57

Atendiendo a la suma de los valores medios de sodio y potasio obtenidos por vía húmeda para las muestras de las pruebas 3 y 4 (2,57 %), en la Figura 2 se observa que la primera derivada de la absorbancia a 5.537 cm^{-1} del espectro promedio de este colectivo de muestras (0,14) está dentro del intervalo de absorbancias (0,39-0,03) de los espectros con valores de sodio comprendidos entre 1,99 y 2,97 %. Sin embargo, el modelo predice un valor para estas muestras de 1,57 %. Como se indicó en el primer capítulo, no podemos fundamentar la predicción en un estudio a una única frecuencia, sino que los modelos deben abarcar regiones que comprendan diferentes frecuencias y permitan, de los espectros obtenidos, obtener la suficiente información para lograr una buena precisión. Por ello, al introducir los espectros de estas muestras en el modelo desarrollado para lonchas que han sido procesadas de diferente manera, se obtuvieron predicciones que no se corresponden con los valores reales. Esto demuestra el elevado error que obtendríamos en el caso de aplicar los modelos desarrollados para una matriz en otras diferentes.

Por otro lado, cabe destacar que los valores predichos para las muestras de las pruebas 3 y 4 se corresponden con el porcentaje de potasio analizado. La explicación a este hecho puede basarse en la mayor penetrabilidad del ion K^+ en los músculos en comparación con el ion Na^+ (Aliño, Grau, Toldrá & Barat, 2010). En principio, ambos metales empleados en el proceso de salazón intervienen en la curación de los jamones, pero a la vista de los resultados obtenidos por el método desarrollado, parece que el potasio es el que contribuye más al proceso de curación.

En la Tabla 5 se comparan los valores de sodio y potasio analizados en cada muestra con el obtenido por el modelo. Si nos fijamos en el valor del sodio, se aprecia diferencia con el valor predicho (0,5-0,8), mientras que en el caso del potasio las diferencias entre los valores no superan el 0,2.

Tabla 5. Diferencias entre los valores predichos y los valores reales para los parámetros sodio y potasio de las muestras con contenido reducido en sodio

Muestras	Valor real			Valor predicho (%)	Diferencia valor predicho y valor real de sodio	Diferencia valor predicho y valor real de potasio
	Sodio (%)	Potasio (%)	Sodio+Potasio (%)			
N1	1,21	1,66	2,87	1,76	0,56	0,10
N2	1,06	1,80	2,85	1,75	0,69	0,05
N3	1,09	1,64	2,73	1,63	0,54	0,01
N4	1,12	1,76	2,88	1,80	0,68	0,04
N5	1,07	1,37	2,44	1,53	0,45	0,16
N6	0,82	1,57	2,39	1,49	0,67	0,08
N7	0,85	1,43	2,29	1,37	0,52	0,06
N8	0,80	1,45	2,25	1,36	0,55	0,09
N9	0,81	1,53	2,35	1,44	0,62	0,10
N32	1,25	1,67	2,92	1,79	0,54	0,11
N39	1,16	1,77	2,93	1,70	0,54	0,07
N40	1,08	1,78	2,86	1,74	0,65	0,04
N41	1,01	1,70	2,71	1,78	0,77	0,08
N50	0,87	1,56	2,43	1,35	0,49	0,20
N51	0,86	1,52	2,39	1,41	0,54	0,11
N52	0,80	1,22	2,02	1,37	0,57	0,15
N53	0,85	1,46	2,32	1,43	0,58	0,03
N55	1,07	1,55	2,62	1,63	0,56	0,08
Media	0,99	1,58	2,57	1,57	0,58	0,09

Para comprobar la diferencia de estas muestras curadas con sodio y potasio, se llevó a cabo la calibración sustituyendo los datos del sodio, por los valores resultantes de la suma del contenido en ambos metales, como era de esperar se comprobó (Figura 4) que este colectivo de muestras aparecen agrupadas fuera de la línea de ajuste del modelo.

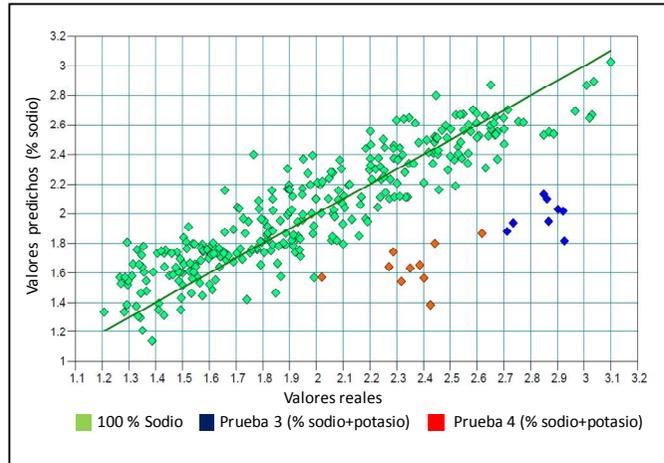


Figura 4. Correlación de los valores de referencia con los predichos por el modelo con la corrección en las muestras curadas con sodio y potasio

Cuando se emplearon los valores obtenidos por vía húmeda para el potasio (Figura 5), se comprobó que los resultados se integraban perfectamente en el modelo, obteniéndose un ajuste de 90,47 % R^2_{cv} , 0,14 % RMSECV y una RPD de 3,24. Estos valores son muy similares a los obtenidos en la calibración de lonchas curadas únicamente con sodio, modelo descrito en el primer capítulo, 91,08 % R^2_{cv} y 0,13 % RMSECV.

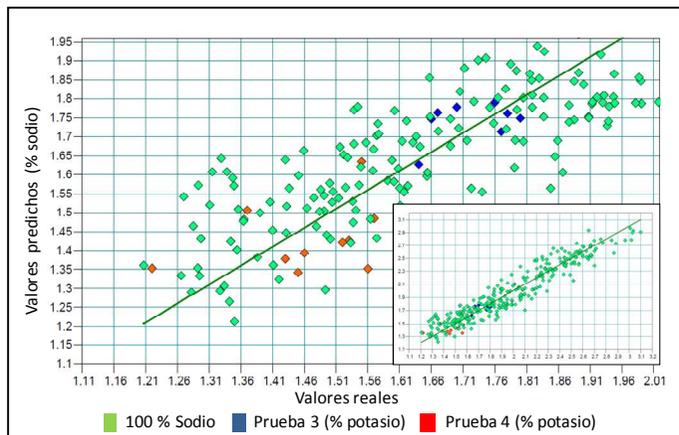


Figura 5. Correlación de los valores de referencia con los predichos por el modelo con la corrección en las muestras curadas con sodio y potasio

4. CONCLUSIONES

Las calibraciones construidas para un tipo de muestra con una matriz determinada no se pueden utilizar con muestras que hayan sido procesadas de diferente forma, ya que los valores predichos no se corresponden con los analizados por vía húmeda, obteniéndose importantes diferencias entre ellos. Por lo tanto, para medir muestras de jamón curadas con diferentes sales, sería necesario desarrollar una nueva calibración que permitiera predecir el contenido de dichas sales por separado o la suma de ellas en cada muestra.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aliño, M., Grau, R., Toldrá, F., & Barat, J. M. (2010b). Physicochemical changes in dry-cured hams salted with potassium, calcium and magnesium chloride as a partial replacement for sodium chloride. *Meat science*, 86(2), 331-336. doi:10.1016/j.meatsci.2010.05.003.

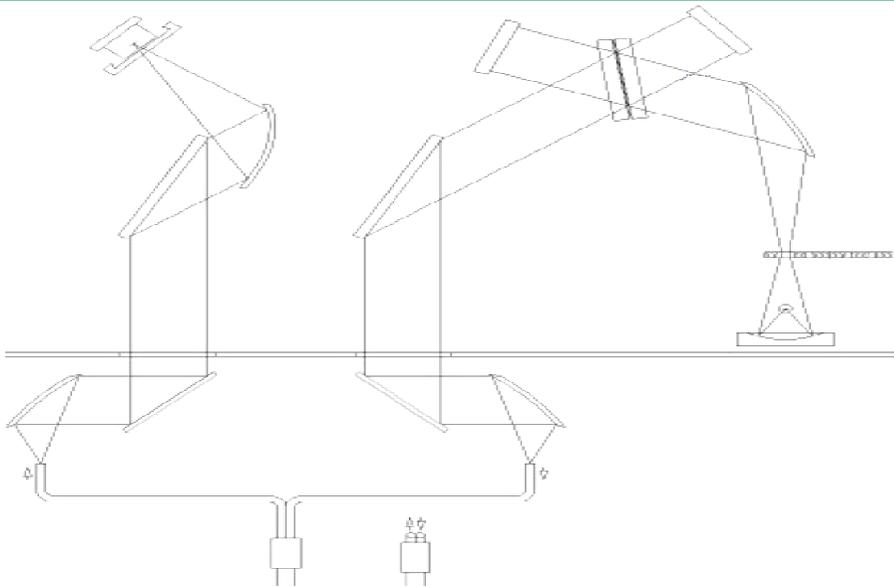
Begley, T. H., Lanza, E., Norris, K. H., & Hruschka, W. R. (1984). Determination of sodium chloride in meat by near-infrared diffuse reflectance spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32 (5), 984-987. doi: 10.1021/jf00125a007.

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. doi:10.1016/j.foodchem.2011.04.073.

García-Rey, R. M., García-Olmo, J., De Pedro, E., Quiles-Zafra, R., & de Castro, M. L. (2005). Prediction of texture and colour of dry-cured ham by visible and near infrared spectroscopy using a fiber optic probe. *Meat science*, 70(2), 357-363. doi:10.1016/j.meatsci.2005.02.001.

- 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, 250–255. doi:10.1016/j.meatsci.2005.02.001.
- Isaksson, T., Nilsen, B. N., Tøgersen, G., Hammond, R. P., & Hildrum, K. I. (1996). On-line, proximate analysis of ground beef directly at a meat grinder outlet. *Meat Science*, 43(3), 245-253. doi:10.1016/S0309-1740(98)00106-5
- Prevolnik, M., Povše, Z., Škrlep, M., Škorjanc, & Candek-Potokar, M. (2012). Chemical composition of dry ham “Kraskipsut” predicted by NIR spectroscopy. 7th international symposium on the Mediterranean Pig, no. 101.
- Prevolnik, M., Andronikov, D., Žlender, B., Font-i-Furnols, M., Novič, M., Škorjanc, D., & Candek-Potokar, M. (2014). Classification of dry-cured hams according to the maturation time using near infrared spectra and artificial neural networks. *Meat science*, 96(1), 14-20. doi:10.1016/j.meatsci.2013.06.013.
- Prevolnik, M., Škrlep, M., Janež, L., Velikonja-Bolta, Š., Škorjanc, D., & Candek-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. doi:10.1016/j.meatsci.2011.01.007.
- Tøgersen, G., Arnesen, J. F., Nilsen, B. N., & Hildrum, K. I. (2003). On-line prediction of chemical composition of semi-frozen ground beef by non-invasive NIR spectroscopy. *Meat Science*, 63(4), 515-523. doi:10.1016/S0309-1740(98)00106-5.
- Schwarze, H. (1996). Continuous fat analysis in the meat industry. *Rapport. Bioteknologisk Institut (Denmark)*
- .

CONCLUSIONES FINALES



CONCLUSIONES FINALES

A continuación se exponen las conclusiones derivadas de este trabajo de tesis doctoral, así como las aportaciones realizadas y las propuestas para continuar investigando la viabilidad de la tecnología NIRS aplicada a la industria del jamón curado. Las conclusiones se han estructurado según el producto o proceso donde se ha aplicado la tecnología.

Jamón curado loncheado

1. La tecnología NIRS nos ha permitido desarrollar una aplicación on-line para determinar el contenido de sodio con buena precisión dentro del control de este elemento en cada una de las bandejas del producto “jamón curado loncheado” en la propia línea de envasado de la empresa. El modelo propuesto para la determinación de humedad es el aceptable dentro del control de estos productos, considerando además la gran importancia que tiene la rapidez de las medidas en los procesos industriales.
2. Los modelos de predicción NIR en la determinación de sodio que se proponen teniendo en cuenta la influencia de la temperatura en los espectros, nos proporcionan resultados muy similares a los del método de referencia. El modelo global construido a partir de espectros medidos a diferentes temperaturas, resulta ser más ventajoso que los locales, referidos a un intervalo concreto. Esto permite la aplicación en muestras de temperatura desconocida, evitando la construcción de un nuevo modelo en cada caso.
3. El procedimiento propuesto para la determinación del sodio en jamón curado, parámetro complicado de medir en una matriz tan compleja, mejora la precisión de otros modelos desarrollados hasta la actualidad.

4. Las calibraciones construidas para la determinación de sodio en un tipo de muestra solo sirve para dicha matriz, no pudiéndose utilizar en otras muestras procesadas con sales diferentes al NaCl, ya que los resultados difieren de los valores obtenidos por los métodos convencionales, vía húmeda.

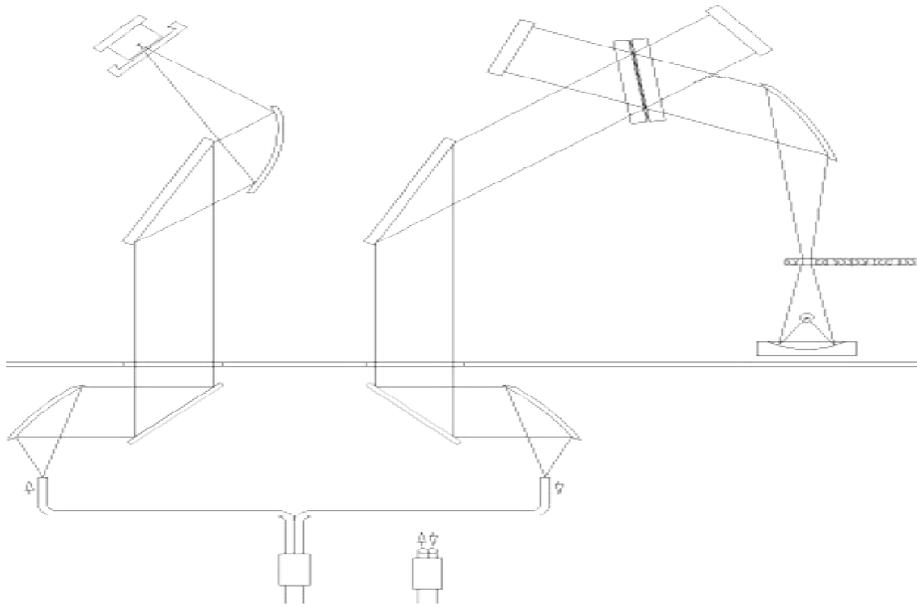
Pieza entera deshuesada de jamón curado

5. La calibración obtenida para piezas enteras de jamón curado teniendo en cuenta la penetrabilidad de la radiación en la muestra analizada indica que, ampliando el número de muestras en la construcción del modelo de predicción, se obtendría un mejor ajuste que permitiría predecir de forma fiable el contenido en sodio en la zona de mayor presencia, “la babilla”, lo que permitiría llevar a cabo la clasificación de la pieza en función de este elemento.

Proceso de curación de jamón con contenido reducido en sodio

6. Durante el proceso en el que se han realizado diferentes formulaciones para conseguir jamones con una reducción del contenido de sodio superior al 25%, sin alteración microbiana ni proteolítica y con una textura, sabor y olor adecuados hasta llegar a la formulación idónea, hemos realizado estudios para la obtención de modelos de predicción NIR en la determinación de los parámetros implicados en dicho proceso. Los resultados obtenidos no son concluyentes debido al bajo número de muestras analizadas. Sin embargo, los modelos desarrollados son susceptibles de ser mejorados, ampliando el conjunto de calibración y empleando muestras pertenecientes a la misma etapa del proceso.

ANEXOS



ANEXO 1. Valores de referencia de sodio y humedad para la calibración de ambos parámetros en muestras de jamón curado loncheado

Nº muestra	Zona del jamón	Sodio* (%)	Humedad* (%)	Nº muestra	Zona del jamón	Sodio* (%)	Humedad* (%)
1	Punta	2,441	42,35	36	Punta	1,658	30,67
2	Maza	2,652	43,81	37	Punta	2,409	53,24
3	Maza	3,036	41,71	38	Punta	2,441	52,71
4	Punta	3,099	44,03	39	Maza	2,401	50,68
5	Codillo	2,369	47,02	40	Codillo	2,258	46,52
6	Maza	2,184	44,19	41	Codillo	2,528	49,52
7	Punta	2,966	39,28	42	Punta	2,250	47,33
8	Codillo	2,651	33,73	43	Punta	3,029	44,53
9	Codillo	2,585	42,72	44	Punta	3,096	44,61
10	Punta	2,276	39,47	45	Maza	2,869	41,47
11	Punta	1,951	37,93	46	Maza	2,849	39,99
12	Maza	2,087	39,49	47	Maza	2,435	43,36
13	Codillo	1,406	57,40	48	Punta	2,412	41,04
14	Maza	1,504	57,52	49	Maza	2,437	44,02
15	Punta	2,299	47,49	50	Codillo	2,289	39,57
16	Punta	2,447	52,55	51	Punta	1,749	56,06
17	Punta	2,232	59,48	52	Punta	1,885	52,87
18	Maza	2,081	53,78	53	Maza	1,663	55,32
19	Maza	1,834	54,53	54	Maza	1,642	54,61
20	Codillo	1,891	50,24	55	Codillo	1,574	49,12
21	Punta	1,968	56,25	56	Codillo	1,752	52,98
22	Punta	1,514	57,56	57	Punta	2,346	41,18
23	Punta	1,431	59,09	58	Punta	2,676	38,22
24	Codillo	2,341	38,74	59	Codillo	2,311	30,27
25	Maza	2,229	38,42	60	Codillo	2,345	32,40
26	Codillo	1,311	-	61	Maza	2,676	37,79
27	Maza	1,295	-	62	Maza	2,548	34,80
28	Maza	1,266	55,01	63	Punta	1,897	53,81
29	Maza	2,330	39,95	64	Maza	1,892	51,42
30	Punta	2,273	42,10	65	Maza	1,897	51,72
31	Punta	2,242	42,78	66	Codillo	1,900	53,33
32	Punta	2,047	41,41	67	Codillo	2,047	54,85
33	Codillo	1,892	34,81	68	Punta	1,948	52,21
34	Maza	2,056	39,11	69	Punta	2,184	44,30
35	Maza	2,061	40,33	70	Punta	2,198	43,06
				71	Maza	2,014	42,51

* Valor promedio de cinco determinaciones.

Aplicación de la tecnología NIRS para la determinación de sodio y parámetros implicados en el proceso industrial del jamón curado

Nº muestra	Zona del jamón	Sodio* (%)	Humedad* (%)
72	Punta	2,382	34,09
73	Punta	2,082	56,79
74	Punta	2,004	53,70
75	Maza	1,641	54,92
76	Maza	1,690	59,62
77	Codillo	1,638	54,62
78	Codillo	1,653	54,74
79	Punta	2,291	58,38
80	Maza	2,062	49,19
81	Maza	2,098	49,00
82	Codillo	2,191	48,20
83	Punta	2,207	51,86
84	Punta	1,900	56,01
85	Maza	1,746	55,44
86	Maza	1,805	55,40
87	Punta	1,977	55,17
88	Codillo	1,818	54,39
89	Codillo	1,948	54,48
90	Maza	1,986	47,30
91	Maza	2,022	49,19
92	Maza	1,947	53,16
93	Maza	1,991	53,81
94	Maza	1,913	57,25
95	Punta	1,610	55,22
96	Punta	1,795	54,03
97	Punta	1,765	47,43
98	Codillo	2,093	50,09
99	Codillo	2,301	49,97
100	Codillo	2,044	46,45
101	Codillo	1,784	45,48
102	Maza	1,785	49,03
103	Maza	1,705	49,00
104	Maza	1,927	56,46
105	Maza	1,778	56,43
106	Maza	1,538	48,91
107	Maza	1,557	50,21

Nº muestra	Zona del jamón	Sodio* (%)	Humedad* (%)
108	Punta	1,827	49,88
109	Punta	1,830	53,94
110	Punta	1,791	45,00
111	Maza	1,436	54,71
112	Maza	1,611	54,27
113	Maza	1,631	54,41
114	Punta	1,500	57,48
115	Punta	1,577	56,17
116	Punta	1,569	53,91
117	Maza	1,342	56,30
118	Maza	1,282	55,73
119	Maza	1,292	55,65
120	Maza	1,356	53,18
121	Maza	1,354	52,78
122	Maza	1,349	54,08
123	Codillo	1,327	56,15
124	Codillo	1,537	55,50
125	Maza	1,297	54,08
126	Maza	1,315	54,12
127	Punta	1,207	56,80
128	Punta	1,365	58,90
129	Codillo	1,621	56,36
130	Codillo	1,602	54,46
131	Codillo	1,657	52,00
132	Punta	1,338	57,51
133	Punta	1,564	58,72
134	Punta	1,538	58,68
135	Punta	1,501	58,49
136	Codillo	1,432	54,82
137	Punta	1,285	59,26
138	Punta	1,451	57,84
139	Maza	1,293	57,25
140	Maza	1,270	54,43
141	Punta	1,598	56,54
142	Punta	1,505	55,14
143	Maza	1,568	54,62

Nº muestra	Zona del jamón	Sodio* (%)	Humedad* (%)
144	Maza	2,607	32,96
145	Punta	2,903	39,15
146	Punta	2,886	38,57
147	Punta	2,755	38,08
148	Codillo	2,543	40,07
149	Maza	2,515	42,03
150	Punta	2,567	41,77
151	Punta	2,550	42,17
152	Punta	2,565	42,09
153	Codillo	3,009	39,34
154	Punta	3,020	43,44
155	Punta	2,201	44,35
156	Punta	2,221	42,95
157	Maza	2,120	43,35
158	Maza	2,239	44,52
159	-	2,132	50,52
160	-	1,949	49,08
161	-	2,076	53,78
162	-	2,333	52,22
163	-	2,055	53,11
164	-	2,202	52,57
165	-	2,203	51,16
166	-	2,649	49,48
167	-	2,457	51,26
168	Maza	1,329	53,93
169	Maza	1,364	52,57
170	Maza	1,350	51,77
171	Maza	1,576	56,12
172	Punta	1,608	55,69
173	Maza	1,546	55,60
174	Maza	1,491	54,56
175	Punta	1,479	58,01
176	Punta	1,533	59,37
177	Punta	1,493	57,68
178	-	2,491	50,96
179	-	2,311	45,34

Nº muestra	Zona del jamón	Sodio* (%)	Humedad* (%)
180	-	2,642	49,56
181	-	2,158	46,33
182	-	2,500	51,39
183	-	2,519	45,68
184	-	2,255	48,77
185	-	2,773	48,42
186	Codillo	2,715	39,28
187	Codillo	2,487	39,65
188	Codillo	2,483	41,06
189	Codillo	2,568	41,54
190	Codillo	2,539	42,84
191	Codillo	2,630	44,40
192	Maza	2,699	44,07
193	Maza	2,521	41,37
194	Maza	2,667	44,68
195	Maza	2,599	45,62
196	Maza	2,679	46,06
197	Maza	2,673	45,00
198	Punta	2,623	45,33
199	Punta	2,670	45,59
200	Punta	2,677	45,72
201	Punta	2,654	45,12
202	Punta	2,537	42,59
203	Punta	2,442	42,20
204	Maza	2,492	44,84
205	Maza	2,451	45,13
206	Maza	2,464	44,50
207	Maza	2,467	44,66
208	Punta	2,580	45,59
209	Punta	2,590	44,87
210	Punta	2,576	44,60
211	Punta	2,495	44,17
212	Punta	2,341	40,32
213	Punta	2,222	40,74
214	Punta	2,363	42,98
215	Codillo	2,340	44,17

Aplicación de la tecnología NIRS para la determinación de sodio y parámetros implicados en el proceso industrial del jamón curado

Nº muestra	Zona del jamón	Sodio* (%)	Humedad* (%)	Nº muestra	Zona del jamón	Sodio* (%)	Humedad* (%)
216	Codillo	2,280	44,73	252	-	1,908	51,23
217	Maza	2,277	45,10	253	-	1,783	51,12
218	Maza	2,396	44,45	254	-	1,763	47,52
219	Maza	2,035	51,66	255	Punta	1,615	43,71
220	Punta	1,590	59,18	256	Punta	1,530	43,97
221	Punta	1,613	57,35	257	Maza	1,747	42,92
222	Punta	1,540	53,06	258	-	1,991	45,75
223	Maza	1,545	52,68	259	-	1,939	47,85
224	Punta	1,432	56,44	260	-	1,888	48,52
225	Maza	1,431	56,79	261	-	1,901	48,68
226	Punta	1,464	57,13	262	-	2,010	46,17
227	Maza	1,428	58,82	263	-	1,943	45,55
228	Punta	1,492	58,36	264	-	1,829	48,49
229	Punta	1,481	57,32	265	-	1,874	47,52
230	Punta	1,631	55,51	266	-	2,044	48,51
231	-	1,833	53,24	267	-	2,104	48,17
232	-	1,770	52,72	268	-	1,902	46,18
233	-	1,778	50,49	269	-	1,980	48,71
234	-	1,592	47,17	270	-	2,032	47,38
235	-	1,589	50,57	271	-	1,997	47,62
236	-	1,665	48,79	272	-	1,909	49,49
237	-	1,628	44,89	273	-	1,860	49,74
238	-	1,759	52,59	274	-	1,916	48,31
239	-	1,848	57,42	275	-	1,757	47,48
240	-	1,795	53,19	276	-	1,832	45,42
241	-	1,785	48,69	277	-	1,793	48,14
242	-	1,764	50,61	278	-	1,449	51,40
243	-	1,701	51,17	279	-	1,535	48,73
244	-	1,745	50,41	280	-	1,620	45,16
245	-	1,811	54,56	281	-	1,580	45,94
246	-	1,899	54,39	282	-	1,453	50,94
247	-	1,833	51,29	283	-	1,399	50,81
248	-	1,844	51,70	284	-	1,734	51,52
249	-	1,919	50,72	285	-	2,118	56,68
250	-	1,857	50,61	286	-	2,131	56,81
251	-	1,848	52,04	287	-	2,001	55,22

Nº muestra	Zona del jamón	Sodio* (%)	Humedad* (%)
288	-	1,934	54,75
289	-	1,895	54,00
290	-	1,867	53,55
291	-	1,664	53,50
292	-	1,543	53,08
293	-	1,583	53,51
294	-	1,649	53,44
295	-	1,746	53,21
296	-	1,577	51,77
297	-	1,545	54,61
298	-	1,632	56,40
299	-	1,669	54,31
300	-	1,464	52,70
301	-	1,419	54,14
302	-	1,512	56,73
303	-	1,939	52,18
304	Punta	2,284	46,59
305	-	2,232	47,60
306	-	2,160	46,15
307	-	2,186	44,09
308	-	2,186	45,06
309	-	2,083	43,92
310	-	1,995	43,11

ANEXO 2. Valores de referencia de sodio para la calibración de piezas enteras de jamón curado

Nº muestra	Sodio* (%)	Nº muestra	Sodio* (%)	Nº muestra	Sodio* (%)
Primera calibración					
1	2,591	36	1,552	71	1,420
2	2,570	37	1,519	72	1,439
3	2,488	38	1,558	73	2,187
4	2,028	39	1,397	74	2,280
5	1,786	40	1,582	75	2,651
6	1,879	41	1,448	76	2,840
7	1,654	42	1,407	77	2,387
8	1,899	43	1,747	78	2,150
9	2,518	44	1,607	79	1,754
10	2,003	45	1,662	80	1,375
11	1,979	46	1,662	81	1,697
12	1,896	47	1,520	82	1,588
13	2,515	48	1,547	83	1,757
14	2,463	49	1,743	84	1,873
15	2,327	50	1,672	85	1,907
16	2,721	51	1,655	86	2,083
17	2,564	52	1,548	87	1,557
18	1,840	53	1,511	88	2,303
19	1,718	54	1,576	89	1,604
20	1,683	55	2,122	90	1,546
21	1,641	56	1,886	91	2,584
22	1,829	57	1,959	92	1,486
23	1,733	58	2,072	93	2,002
24	1,841	59	2,016	94	1,771
25	1,571	60	2,093	95	2,175
26	1,322	61	1,664	96	2,410
27	1,446	62	1,685	97	2,096
28	1,690	63	1,598	98	1,886
29	1,535	64	2,056	99	2,585
30	1,647	65	1,866	100	2,395
31	1,457	66	1,953	101	1,781
32	1,355	67	1,541	102	1,972
33	1,383	68	1,642	103	2,791
34	1,728	69	1,389	104	2,309
35	1,432	70	1,327	105	2,715
* Valor promedio de cinco determinaciones					
				106	2,674

Nº	Sodio*	Nº	Sodio*	Nº	Sodio*
Primera calibración		Primera calibración		Primera calibración	
107	2,307	143	1,255	179	2,044
108	2,563	144	1,569	180	2,282
109	2,492	145	2,131	181	1,564
110	2,299	146	1,390	182	2,437
111	2,398	147	2,482	183	1,940
112	2,582	148	2,154	184	2,144
113	2,273	149	1,092	185	1,365
114	2,187	150	1,381	186	1,511
115	2,333	151	1,198	187	1,765
116	1,803	152	2,024	188	1,621
117	1,912	153	1,350	189	1,840
118	2,262	154	1,390	190	1,554
119	2,481	155	1,397	191	1,565
120	1,726	156	1,746	192	1,974
121	1,496	157	1,577	193	2,179
122	2,376	158	0,901	194	1,459
123	2,076	159	1,058	195	1,498
124	2,139	160	2,050	196	1,604
125	1,696	161	2,152	197	1,441
126	2,474	162	2,141	198	1,462
127	1,234	163	2,153	199	2,626
128	1,436	164	2,146	200	2,675
129	1,654	165	2,279	201	2,600
130	1,819	166	1,773	202	1,509
131	1,453	167	2,094	203	1,728
132	1,259	168	2,210	204	2,133
133	1,628	169	2,102	205	2,441
134	2,526	170	1,927	206	1,333
135	1,559	171	1,994	207	2,368
136	1,509	172	2,445	208	2,213
137	2,017	173	2,078	209	1,839
138	1,585	174	2,065	210	1,719
139	1,859	175	2,423	211	1,788
140	2,150	176	2,277	212	2,104
141	1,252	177	2,498	213	1,735
142	2,411	178	2,279	214	1,807

Aplicación de la tecnología NIRS para la determinación de sodio y parámetros implicados en el proceso industrial del jamón curado

Nº	Sodio*	Nº	Sodio*	Nº	Sodio*
Primera calibración		Primera calibración		Segunda calibración	
215	2,121	251	1,566	286	1,268
216	2,025	252	1,710	287	1,824
217	2,027	253	1,528	288	1,450
218	2,061	254	1,498	289	1,630
219	2,371	255	1,619	290	1,935
220	2,299	256	1,176	291	1,866
221	1,839	257	1,510	292	2,149
222	1,752	258	1,213	293	2,100
223	1,945	259	1,465	294	1,979
224	1,941	260	1,552	295	1,789
225	2,318	261	1,456	296	1,649
226	2,015	262	1,286	297	1,606
227	2,228	263	1,465	298	1,747
228	1,731	264	1,219	299	1,715
229	2,428	Segunda calibración		300	2,090
230	1,812	265	1,548	301	1,801
231	1,781	266	1,534	302	1,807
232	1,849	267	1,576	303	1,781
233	1,599	268	2,011	304	2,018
234	1,927	269	2,025	305	1,758
235	2,344	270	1,900	306	2,489
236	1,834	271	1,805	307	1,740
237	1,844	272	1,871	308	2,682
238	0,951	273	1,513	309	2,398
239	2,208	274	1,662	310	1,904
240	2,276	275	2,175	311	1,992
241	2,217	276	1,783	312	1,842
242	1,968	277	2,077	313	1,845
243	2,158	278	1,999	314	1,856
244	1,540	279	1,682	315	2,158
245	1,536	280	1,915	316	1,721
246	1,848	281	1,570	317	1,926
247	1,918	282	1,652	318	1,904
248	1,661	283	1,673	319	2,295
249	1,957	284	1,646	320	2,065
250	1,424	285	1,833	321	1,653

Nº	Sodio*	Nº	Sodio*	Nº	Sodio*
Segunda calibración		Segunda calibración		Tercera calibración	
322	2,653	358	1,528	393	2,399
323	2,153	359	1,498	394	2,213
324	1,726	360	1,619	395	2,181
325	2,456	361	1,176	396	1,884
326	2,411	362	1,510	397	2,110
327	2,815	363	1,213	398	2,292
328	2,003	364	1,465	399	2,272
329	1,558	365	1,552	400	1,626
330	2,423	366	1,456	401	2,142
331	2,290	367	1,286	402	1,999
332	1,559	368	1,465	403	2,435
333	1,520	369	1,219	404	2,557
334	2,820	Tercera calibración		405	1,820
335	1,646	370	1,699	406	2,161
336	2,331	371	1,751	407	1,607
337	1,579	372	1,703	408	2,309
338	1,682	373	1,501	409	2,551
339	1,761	374	1,623	410	2,288
340	1,862	375	1,644	411	2,460
341	1,662	376	1,889		
342	2,072	377	1,820		
343	1,559	378	2,245		
344	1,941	379	2,378		
345	2,069	380	2,510		
346	1,725	381	2,476		
347	1,494	382	1,869		
348	1,745	383	1,923		
349	1,743	384	1,960		
350	1,714	385	2,602		
351	1,898	386	1,824		
352	1,918	387	1,788		
353	1,661	388	1,839		
354	1,957	389	1,948		
355	1,424	390	2,395		
356	1,566	391	2,224		
357	1,710	392	2,344		

ANEXO 3. Valores de referencia de los parámetros implicados en el proceso de curación de jamón con contenido reducido en sodio

Anexo 3.1 Jamón magro en bandeja

Variante	Nº Muestra	Parámetro (promedio de duplicados)								
		Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Actividad de agua (a_w)	Cloruro de sodio (%)	Sodio (%)	Potasio (%)	Calcio (%)	Magnesio (%)
Etapas salado										
V-1	1	69,66	5,53	21,99	0,989	2,512	0,850	0,353	0,024	0,021
	2	70,59	3,09	22,59	0,982	2,872	1,038	0,369	0,050	0,029
	3	69,61	5,07	22,23	0,981	2,156	0,878	0,321	0,030	0,022
	4	68,25	5,83	22,09	0,981	2,512	1,037	0,361	0,060	0,031
	5	71,00	3,62	22,09	0,978	2,324	1,013	0,389	0,030	0,023
	6	70,01	5,00	22,58	0,980	2,286	1,076	0,444	0,045	0,025
	7	68,36	4,86	22,43	0,983	2,461	0,965	0,328	0,045	0,027
	8	69,59	4,27	21,35	0,968*	2,618	1,090	0,377	0,057	0,030
	9	70,69	4,11	20,99	0,986	2,682	1,024	0,364	0,043	0,027
	10	70,93	3,04	22,30	0,983	2,379	0,951	0,420	0,044	0,030
V-2	11	69,85	5,09	22,68	0,984	2,210	0,624	0,496	0,046	0,029
	12	68,43	5,49	21,84	0,992	2,048	0,657	0,487	0,042	0,027
	13	68,14	4,97	23,00	0,993	1,919	0,598	0,552	0,020	0,022
	14	67,24	6,11	22,74	0,992	2,212	0,748	0,704	0,008	0,020
	15	68,88	6,06	18,89	0,994	2,517	0,827	0,631	0,022	0,020
	16	71,41	3,53	19,83	0,991	2,339	0,739	0,633	0,021	0,021
	17	68,69	4,86	19,92	0,993	3,172*	0,898	0,694	0,026	0,023
	18	69,38	4,39	21,17	0,977	3,197*	0,933	0,698	0,022	0,021
	19	66,63	7,34	22,58	0,988	2,268	0,680	0,576	0,017	0,023
	20	66,20	6,69	21,54	0,994	1,817	0,550	0,512	0,011	0,021

* Valores anómalos detectados con la prueba de la Q de Dixon

ANEXO 3.1 Jamón magro en bandeja

Variante	Nº Muestra	Parámetro								
		Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Actividad de agua (a _w)	Cloruro de sodio (%)	Sodio (%)	Potasio (%)	Calcio (%)	Magnesio (%)
Etapas salado										
V-3	21	69,44	5,49	21,38	0,975	2,329	0,618	0,702	0,027	0,023
	22	69,21	5,65	20,44	0,976	2,342	0,626	0,688	0,028	0,022
	23	70,85	4,71	18,71	0,988	2,565	0,669	0,741	0,019	0,019
	24	70,29	4,03	21,50	0,984	2,822	0,730	0,766	0,025	0,021
	25	69,35	4,64	22,10	0,982	2,731	0,720	0,753	0,033	0,022
	26	70,35	3,87	22,71	0,977	3,011	0,759	0,787	0,026	0,024
	27	68,21	6,00	22,78	0,983	2,300	0,603	0,677	0,022	0,021
	28	70,34	4,64	18,92	0,988	2,554	0,641	0,725	0,020	0,020
	29	70,49	4,89	20,64	0,986	2,994	0,766	0,787	0,020	0,025
	30	68,76	5,87	22,29	0,990	2,584	0,685	0,727	0,019	0,026
V-4	31	69,84	4,84	21,84	0,994	2,324	0,601	0,667	0,033	0,024
	32	66,44	6,17	18,86	0,972	1,976	0,522	0,603	0,023	0,023
	33	71,29	3,49	20,97	0,976	1,969	0,495	0,629	0,026	0,024
	34	71,61	4,34	21,61	0,986	2,522	0,636	0,686	0,022	0,022
	35	69,63	5,79	18,65	0,994	2,117	0,597	0,624	0,028	0,021
	36	70,08	4,88	22,90	0,987	2,465	0,622	0,708	0,030	0,024
	37	70,12	4,50	21,07	0,981	2,724	0,778	0,822	0,036	0,029
	38	70,82	3,41	21,72	0,993	2,883	0,680	0,810	0,031	0,027
	39	68,33	5,42	13,38*	0,994	2,486	0,620	0,737	0,039	0,029
	40	68,42	3,58	21,93	0,996	2,413	0,562	0,722	0,034	0,028

* Valores anómalos detectados con la prueba de la Q de Dixon

Aplicación de la tecnología NIRS para la determinación de sodio y parámetros implicados en el proceso industrial del jamón curado

Variante	Nº Muestra	Parámetro								
		Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Actividad de agua (aw)	Cloruro de sodio (%)	Sodio (%)	Potasio (%)	Calcio (%)	Magnesio (%)
Etapas postsalado										
V-1	41	56,58	6,00	27,36	0,966	4,215	1,695	0,552	0,022	0,031
	42	61,90	5,33	26,34	0,966	3,935	1,660	0,542	0,020	0,029
	43	58,79	7,06	29,16	0,968	3,763	1,520	0,550	0,022	0,032
	44	50,90*	7,97	29,73	0,979	3,423	1,551	0,544	0,023	0,031
	45	59,44	5,97	26,77	0,981	3,788	1,490	0,548	0,022	0,030
	46	59,62	7,81	28,32	0,995	3,514	1,367	0,502	0,020	0,031
	47	59,65	5,74	27,77	0,980	3,348	1,337	0,512	0,021	0,030
	48	57,56	4,44	26,71	0,990	3,753	1,568	0,548	0,020	0,030
	49	56,95	4,96	27,88	0,975	3,595	1,426	0,530	0,020	0,029
	50	59,11	4,56	25,58	0,948	3,634	1,493	0,504	0,020	0,029
V-2	51	59,75	5,95	27,65	0,966	3,564	1,114	0,941	0,020	0,031
	52	57,46	7,11	26,97	0,976	3,016	0,955	0,834	0,022	0,029
	53	59,61	4,45	27,89	0,965	3,403	1,101	0,907	0,020	0,029
	54	57,65	5,18	31,65	0,977	3,677	1,159	0,923	0,022	0,033
	55	56,42	5,28	27,02	0,974	3,929	1,178	0,946	0,024	0,031
	56	58,05	9,09	28,29	0,955	2,997	0,906	0,798	0,022	0,031
	57	58,39	8,05	26,82	0,991	3,585	0,955	0,796	0,031*	0,030
	58	58,15	5,89	26,81	0,956	3,406	1,044	0,846	0,021	0,030
	59	58,44	6,18	25,29	0,980	3,718	1,165	0,925	0,020	0,028
	60	57,09	4,64	27,37	0,980	3,800	1,230	0,905	0,022	0,032

* Valores anómalos detectados con la prueba de la Q de Dixon

ANEXO 3.1 Jamón magro en bandeja

Variante	Nº Muestra	Parámetro								
		Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Actividad de agua (aw)	Cloruro de sodio (%)	Sodio (%)	Potasio (%)	Calcio (%)	Magnesio (%)
Etapas postsalado										
V-3	61	62,75	5,00	27,32	0,971	3,709	0,893	1,025	0,020	0,030
	62	59,57	5,45	27,53	0,966	3,458	0,958	1,148	0,022	0,029
	63	62,70	6,17	27,25	0,981	3,498	0,950	1,006	0,019	0,032
	64	61,35	3,96	29,27	0,972	3,896	1,071	1,187	0,021	0,033
	65	61,75	4,63	26,93	0,984	3,137	0,895	0,999	0,020	0,031
	66	61,47	4,57	28,36	0,968	4,087	1,191	1,193	0,023	0,034
	67	59,68	6,95	28,36	0,962	3,749	1,058	1,103	0,020	0,029
	68	61,27	6,70	29,90	0,969	3,886	1,105	1,162	0,021	0,031
	69	62,08	5,55	28,61	0,981	3,534	0,971	1,074	0,020	0,032
	70	64,14	4,00	28,10	0,977	3,163	0,952	1,084	0,021	0,031
V-4	71	61,73	5,87	26,44	0,972	2,469	0,700	0,982	0,030	0,036
	72	60,35	9,40	26,95	0,983	3,131	0,832	0,906	0,039	0,031
	73	61,17	6,53	27,79	0,966	3,510	0,942	1,026	0,030	0,034
	74	60,63	4,20	28,28	0,964	4,016	1,171	1,200	0,031	0,037
	75	60,10	4,80	28,14	0,969	4,292	1,193	1,207	0,043	0,040
	76	61,63	3,87	32,19	0,977	3,848	1,069	1,117	0,036	0,035
	77	55,26*	7,39	27,30	0,968	3,509	1,069	1,127	0,031	0,035
	78	60,68	4,63	25,52	0,973	3,615	0,993	1,033	0,031	0,034
	79	63,11	6,36	37,78	0,970	3,418	0,872	0,983	0,025	0,035
	80	59,72	5,09	28,32	0,976	3,363	0,955	1,025	0,034	0,037

* Valores anómalos detectados con la prueba de la Q de Dixon

Aplicación de la tecnología NIRS para la determinación de sodio y parámetros implicados en el proceso industrial del jamón curado

Variante	Nº Muestra	Parámetro								
		Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Actividad de agua (aw)	Cloruro de sodio (%)	Sodio (%)	Potasio (%)	Calcio (%)	Magnesio (%)
Etapas curado										
V-1	81	51,58	7,92	33,70	0,923	4,674	1,768	0,634	0,022	0,029
	82	52,70	11,34	31,05	0,928	3,941	1,467	0,575	0,028	0,030
	83	52,84	10,68	30,58	0,942	3,880	1,599	0,583	0,021	0,028
	84	51,12	13,32	31,28	0,942	3,505	1,406	0,588	0,027	0,028
	85	53,00	8,10	33,62	0,940	4,269	1,857	0,690	0,015	0,030
	86	52,99	11,31	30,73	0,940	4,037	1,700	0,604	0,013	0,027
	87	51,03	9,06	32,13	0,929	4,248	1,660	0,656	0,022	0,032
	88	52,61	7,41	30,70	0,930	4,098	1,795	0,657	0,017	0,031
	89	51,16	10,60	33,17	0,944	4,210	1,714	0,615	0,022	0,028
	90	54,72*	11,31	30,05	0,957	3,650	1,380	0,558	0,023	0,028
V-2	91	51,70	8,16	33,17	0,942	4,080	1,179	1,032	0,016	0,028
	92	52,53	8,92	31,22	0,935	3,821	1,137	1,028	0,018	0,028
	93	54,32	9,29	30,53	0,933	4,329	1,260	1,074	0,017	0,028
	94	54,53	9,31	37,32	0,933	4,186	1,323	0,995	0,019	0,030
	95	51,36	11,18	35,03	0,936	4,230	1,370	1,092	0,017	0,029
	96	53,06	8,38	34,02	0,936	3,630	1,212	1,035	0,018	0,030
	97	51,13	7,65	28,55	0,908	5,338	1,519	1,236	0,016	0,031
	98	51,83	10,07	32,64	0,940	4,041	1,272	1,049	0,015	0,029
	99	50,54	11,12	29,04	0,944	4,171	1,290	1,020	0,012*	0,027
	100	47,20	8,59	38,00	0,911	5,122	1,573	1,343	0,027*	0,031

* Valores anómalos detectados con la prueba de la Q de Dixon

ANEXO 3.1 Jamón magro en bandeja

Variante	Nº Muestra	Parámetro								
		Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Actividad de agua (aw)	Cloruro de sodio (%)	Sodio (%)	Potasio (%)	Calcio (%)	Magnesio (%)
Eta­pa curado										
V-3	101	49,58	12,28	30,41	0,947	3,248	0,904	1,117	0,022	0,029
	102	52,05	7,94	33,25	0,921	4,825	1,348	1,424	0,022	0,031
	103	53,51	10,31	30,46	0,939	3,623	0,967	1,131	0,021	0,028
	104	50,68	9,46	32,58	0,943	4,276	1,218	1,301	0,027*	0,029
	105	50,57	8,43	32,17	0,958	4,637	1,034	1,241	0,028	0,031
	106	50,46	11,63	30,46	0,932	3,209	0,923	1,088	0,020	0,028
	107	52,00	9,32	32,82	0,947	4,019	1,170	1,313	0,027	0,029
	108	50,94	11,56	31,97	0,937	4,813	1,401	1,452	0,022	0,027
	109	52,52	7,77	30,75	0,947	3,736	1,002	1,184	0,029	0,030
	110	50,41	11,65	31,32	0,951	3,575	0,998	1,135	0,019	0,028
V-4	111	52,82	8,21	32,94	0,920	4,798	1,227	1,388	0,026	0,037
	112	52,31	7,38	33,48	0,929	4,106	1,028	1,257	0,023	0,035
	113	52,46	8,94	33,94	0,950	4,205	1,100	1,305	0,028	0,039
	114	52,23	9,78	30,76	0,931	3,719	0,969	1,201	0,031	0,036
	115	52,74	10,41	33,07	0,931	4,060	1,111	1,292	0,028	0,036
	116	50,32	6,61	32,99	0,926	4,597	1,241	1,356	0,034	0,039
	117	51,53	9,75	31,92	0,927	4,717	1,208	1,384	0,021	0,037
	118	51,87	12,27	30,42	0,961	2,687*	0,723*	0,957*	0,020	0,031
	119	51,85	10,12	30,70	0,942	3,878	1,038	1,183	0,024	0,035
	120	52,93	9,65	31,13	0,929	4,345	1,153	1,327	0,034	0,038

* Valores anómalos detectados con la prueba de la Q de Dixon

Anexo 3.2 Jamón graso en tina

Variante	Nº Muestra	Parámetro					
		Humedad (%)	Grasa (%)	Actividad de agua (aw)	Cloruro de sodio (%)	Sodio (%)	Potasio (%)
Etapa salado							
V-1	121	65,14	7,15	0,989	2,778	1,099	0,334
	122	63,62	12,15	0,990	2,496	0,999	0,309
	123	66,42	8,89	0,980	2,861	1,097	0,304
	124	64,39	12,82	0,977	2,742	0,970	0,302
	125	63,90	12,06	0,986	2,441	0,967	0,338
	126	63,78	8,85	0,983	2,363	1,005	0,335
	127	63,27	11,31	0,974	3,123	1,144	0,368
	128	64,88	9,47	0,986	2,440	0,963	0,358
	129	64,13	11,18	0,984	2,582	1,062	0,323
	130	62,94	9,87	0,990	2,676	1,048	0,336
V-2	131	65,31	9,57	0,987	1,836	0,460	0,617
	132	66,61	7,01	0,976	1,806	0,462	0,603
	133	64,99	7,97	0,985	1,996	0,526	0,666
	134	65,40	9,32	0,988	1,492	0,411	0,648
	135	67,34	6,49	0,989	1,876	0,459	0,655
	136	64,15	11,80	0,990	1,502	0,372	0,577
	137	63,05	11,23	0,993	2,101	0,550	0,643
	138	64,59	9,47	0,979	2,245	0,669	0,697
	139	64,82	8,24	0,988	2,088	0,532	0,724
	140	62,74	13,15	0,980	2,118	0,566	0,657

* Valores anómalos detectados con la prueba de la Q de Dixon

Anexo 3.2 Jamón graso en tina

Variante	Nº Muestra	Parámetro					
		Humedad (%)	Grasa (%)	Actividad de agua (aw)	Cloruro de sodio (%)	Sodio (%)	Potasio (%)
Etapa salado							
V-3	141	67,11	8,49	0,995	1,832	0,472	0,699
	142	68,13	6,40	0,982	1,724	0,510	0,786
	143	64,08	7,98	0,991	2,376	0,706	0,785
	144	62,38	9,93	0,990	2,175	0,567	0,735
	145	63,09	8,38	0,981	2,134	0,566	0,737
	146	64,61	9,02	0,983	1,657	0,415	0,602
	147	65,83	8,52	0,991	1,324	0,309	0,483
	148	64,80	11,01	0,991	1,499	0,378	0,578
	149	67,75	7,06	0,994	1,455	0,376	0,569
	150	62,93	11,82	0,986	1,351	0,357	0,537

* Valores anómalos detectados con la prueba de la Q de Dixon

Aplicación de la tecnología NIRS para la determinación de sodio y parámetros implicados en el proceso industrial del jamón curado

Variante	Nº Muestra	Parámetro						
		Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Actividad de agua (aw)	Cloruro de sodio (%)	Sodio (%)	Potasio (%)
Etapa postsalado								
V-1	151	48,84	13,45	22,74	0,918	3,618	0,897	0,453
	152	50,92	12,89	23,63	0,899	3,676	1,135	0,576
	153	50,93	12,39	22,63	0,928	3,616	1,396	0,642
	154	50,37	17,35	26,05	0,908	4,092	1,357	0,644
	155	49,13	26,44	27,69	0,941	2,905	1,219	0,576
	156	-	-	23,34	-	-	1,088	0,538
	157	-	-	24,67	-	-	0,995	0,497
	158	-	-	25,42	-	-	1,182	0,558
	159	-	-	23,86	-	-	1,319	0,604
	160	-	-	26,21	-	-	1,289	0,581
V-2	161	52,62	12,32	22,22	0,919	2,854	0,813	1,029
	162	48,92	14,25	24,91	0,926	2,912	0,637	0,897
	163	51,38	12,68	24,94	0,918	2,285*	0,858	1,120
	164	49,77	15,23	24,28	0,936	2,832	0,677	1,010
	165	51,16	14,83	22,78	0,915	2,783	0,756	0,962
	166	-	-	22,18	-	-	0,678	0,971
	167	-	-	27,01	-	-	0,686	1,009
	168	-	-	23,72	-	-	0,767	0,978
	169	-	-	20,31	-	-	0,713	0,989
	170	-	-	25,75	-	-	0,832	1,069

* Valores anómalos detectados con la prueba de la Q de Dixon

Anexo 3.2 Jamón graso en tina

Variante	Nº Muestra	Parámetro						
		Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Actividad de agua (aw)	Cloruro de sodio (%)	Sodio (%)	Potasio (%)
Etapas postsalado								
V-3	171	47,61	16,63	24,20	0,925	3,581	0,692	1,014
	172	48,71	14,98	25,83	0,912	2,614	0,679	1,031
	173	50,31	13,79	26,39	0,937	2,487	0,869	1,218
	174	49,04	12,54	23,26	0,917	3,483	0,771	1,175
	175	50,63	11,74	25,78	0,941	4,108	0,894	1,212
	176	-	-	25,67	-	-	0,797	1,153
	177	-	-	26,86	-	-	0,761	1,092
	178	-	-	25,12	-	-	0,815	1,205
	179	-	-	28,00	-	-	0,740	1,051
	180	-	-	26,43	-	-	0,912	1,348

* Valores anómalos detectados con la prueba de la Q de Dixon

Aplicación de la tecnología NIRS para la determinación de sodio y parámetros implicados en el proceso industrial del jamón curado

Variante	Nº Muestra	Parámetro						
		Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Actividad de agua (aw)	Cloruro de sodio (%)	Sodio (%)	Potasio (%)
Etapas curado								
V-1	181	40,61	17,77	27,82	0,863	5,841	1,889	1,000
	182	42,68	18,88	29,17	0,896	4,927	1,682	0,944
	183	44,06	14,10	28,19	0,896	4,724	1,597	1,017
	184	44,31	16,15	31,32	0,901	4,516	1,531	0,771
	185	45,12	15,49	32,56	0,909	3,964	1,520	0,999
	186	45,22	11,28	34,26	0,893	4,936	1,370	0,853
	187	44,05	16,39	33,32	0,897	5,036	1,581	0,910
	188	43,63	13,54	35,25	0,884	4,896	1,742	0,906
	189	41,82	14,99	34,05	0,891	4,912	1,710	0,792
	190	39,39	17,20	30,36	0,865	5,191	1,806	1,055
V-2	191	45,40	14,48	36,43	0,900	3,795	1,152	1,054
	192	44,27	12,78	34,94	0,884	4,953	1,287	1,172
	193	41,18	19,37	40,00	0,905	2,852	1,432	1,243
	194	44,44	14,17	36,11	0,891	3,426	1,231	1,018
	195	43,45	16,11	30,94	0,904	3,633	1,595	1,215
	196	44,38	14,81	38,26	0,884	4,245	1,509	1,106
	197	44,50	17,53	34,11	0,891	4,064	1,532	1,475
	198	39,48	17,89	34,83	0,886	3,645	1,375	0,944
	199	45,68	12,95	34,76	0,906	3,355	1,291	1,005
	200	42,59	16,51	33,42	0,889	3,937	1,462	0,896

* Valores anómalos detectados con la prueba de la Q de Dixon

Anexo 3.2 Jamón graso en tina

Variante	Nº Muestra	Parámetro						
		Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Actividad de agua (aw)	Cloruro de sodio (%)	Sodio (%)	Potasio (%)
Etapa curado								
V-3	201	43,14	18,79	30,75	0,922	3,340	1,059	1,301
	202	43,03	17,05	33,63	0,905	3,665	1,129	1,813*
	203	41,07	19,73	27,37	0,883	4,590	1,103	1,142
	204	43,65	16,24	33,20	0,912	3,602	1,086	1,364
	205	45,43	15,83	31,19	0,906	4,492	1,148	1,308
	206	40,78	11,31	35,23	0,881	4,567	1,211	1,315
	207	42,09	13,65	35,76	0,878	4,984	1,057	1,416
	208	43,26	15,40	35,62	0,881	4,591	1,046	1,211
	209	44,48	13,34	34,58	0,900	3,846	1,234	1,358
	210	40,87	18,22	31,69	0,876	4,852	1,284	1,127

* Valores anómalos detectados con la prueba de la Q de Dixon

ANEXO 4. Valores de referencia de sodio en muestras de jamón curado loncheado con contenido reducido en sodio

Nº muestra	Zona del jamón	Sodio* (%)	Humedad* (%)
1	Punta	1,208	53,55
2	Maza	1,057	49,84
3	Codillo	1,093	50,09
4	Codillo	1,121	49,19
5	Punta	1,073	52,45
6	Punta	0,821	52,24
7	Maza	0,853	56,11
8	Codillo	0,804	51,57
9	Codillo	0,814	50,62
10	Punta	1,246	49,92
11	Punta	1,156	52,68
12	Maza	1,084	51,98
13	Maza	1,012	48,92
14	Punta	0,868	55,10
15	Maza	0,865	56,65
16	Maza	0,798	49,22
17	Codillo	0,855	49,68
18	Codillo	0,924	51,63
19	Punta	1,069	55,57

* Valor promedio de cinco determinaciones