



UNIVERSIDAD DE BURGOS

**DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIA DE LOS
ALIMENTOS**

**CARACTERIZACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO
TECNOLÓGICO DE ELABORACIÓN DE LA CECINA DE LEÓN**

CRISTINA MOLINERO SASTRE

BURGOS, 2009

**MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Fdo: Cristina Molinero Sastre

DIRECTORA

Fdo. Isabel Jaime Moreno

Profesora Titular de la Universidad De Burgos

DIRECTORA

DIRECTORA

Fdo. Beatriz Martínez Domínguez

Fdo. Begoña Rubio Hernando

Investigador

Técnico

Estación Tecnológica de la Carne

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL)

Consejería de Agricultura y Ganadería. Junta de Castilla y León



UNIVERSIDAD DE BURGOS

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIA DE LOS ALIMENTOS
ÁREA DE TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

ESTACIÓN TECNOLÓGICA DE LA CARNE

INSTITUTO TECNOLÓGICO AGRARIO DE CASTILLA Y LEÓN
CONSEJERÍA DE AGRICULTURA Y GANADERÍA. JUNTA DE CASTILLA Y LEÓN

DOÑA ISABEL JAIME MORENO, PROFESORA TITULAR DE LA UNIVERSIDAD DE BURGOS, DOÑA BEATRIZ MARTÍNEZ DOMÍNGUEZ, INVESTIGADORA Y DOÑA BEGOÑA RUBIO HERNANDO, TÉCNICO, AMBAS PERTENECIENTES A LA ESTACIÓN TECNOLÓGICA DE LA CARNE, EN SU CALIDAD DE DIRECTORAS DE LA TESIS DOCTORAL,

CERTIFICAN: que la memoria titulada “Caracterización y optimización del proceso tecnológico de elaboración de la cecina de León”, que presenta doña Cristina Molinero Sastre, Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, ha sido realizada en la Estación Tecnológica de la Carne y en el Área de Tecnología de los Alimentos bajo su dirección y autorizan su presentación para ser defendida como Tesis Doctoral.

Y para que así conste, y a los efectos oportunos, firman el presente certificado en Burgos, 25 de marzo de 2009.



UNIVERSIDAD DE BURGOS
DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y
CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

DOÑA SAGRARIO BELTRÁN CALVO, PROFESORA TITULAR DE LA UNIVERSIDAD DE BURGOS, EN SU CALIDAD DE DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIA DE LOS ALIMENTOS,

CERTIFICA: que la memoria titulada “Caracterización y optimización del proceso tecnológico de elaboración de la cecina de León”, presentada por Doña Cristina Molinero Sastre, Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, ha sido realizada en la Estación Tecnológica de la Carne y en el Área de Tecnología de los Alimentos bajo la dirección de las Doctoras Doña Isabel Jaime Moreno, Doña Beatriz Martínez Domínguez y Doña Begoña Rubio Hernando, Profesora titular del Área y Investigador y Técnico de la Estación Tecnológica de la Carne respectivamente, y en representación del Consejo de Departamento, autoriza su presentación para ser defendida como Tesis Doctoral.

Y para que así conste, y a los efectos oportunos, firma el presente certificado en Burgos, 25 de marzo de 2009.

Para la realización de la Tesis Doctoral, la autora ha disfrutado de una beca predoctoral del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL) de la Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León, y ha contado además, con financiación del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL) (PEP- 2004.001229) y de fondos FEDER.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|---|------|
| ÍNDICE | I |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | VII |
| ÍNDICE DE TABLAS..... | IX |
| ÍNDICE DE ABREVIATURAS..... | XIII |
| RESUMEN | XV |
| RESUMEN | 17 |
| I. INTRODUCCIÓN..... | 21 |
| 1. INTRODUCCIÓN Y PLANTEAMIENTO | 23 |
| II. OBJETIVOS..... | 27 |
| 1. OBJETIVOS..... | 29 |
| III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA..... | 31 |
| 1. SALAZONES CÁRNICAS..... | 33 |
| 2. EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LA CECINA DE LEÓN..... | 34 |
| 3. CECINA DE LEÓN. INDICACIÓN GEOGRÁFICA PROTEGIDA | 36 |
| 3.1. Área Geográfica..... | 36 |
| 3.2. Razas..... | 37 |
| 3.3. Materia Prima | 37 |
| 3.4. Particularidades del Proceso de Elaboración..... | 38 |
| 3.5. Características de la Cecina de León..... | 39 |
| 3.6. Certificación y Aspectos Legales..... | 39 |
| 4. PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA CECINA DE LEÓN | 41 |
| 4.1. Preparación de la materia prima. Perfilado..... | 42 |
| 4.2. Salazonado | 43 |
| 4.3. Lavado de las piezas | 44 |
| 4.4. Postsalado..... | 44 |
| 4.5. Ahumado | 45 |
| 4.6. Secado-maduración..... | 45 |
| 5. INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA EN LA CECINA..... | 46 |
| 5.1. Raza, sexo y alimentación | 46 |
| 5.2. Edad-peso | 47 |
| 5.3. Tipo de músculos | 48 |
| 5.4. pH | 49 |

| | |
|--|-----------|
| 5.5. Tratamiento de la materia prima..... | 50 |
| 6. INFLUENCIA DE LA TECNOLOGIA DE ELABORACIÓN DE LA CECINA..... | 52 |
| 6.1. Salazonado | 52 |
| 6.1.1. Sal..... | 52 |
| 6.1.2. Nitratos y nitritos | 54 |
| 6.1.3. Proceso de salazonado..... | 59 |
| 6.2. AHUMADO | 61 |
| 6.3. SECADO-MADURACIÓN | 62 |
| 6.3.1. Evolución de los parámetros físico-químicos..... | 63 |
| 6.3.1.1. Humedad..... | 63 |
| 6.3.1.2. Actividad de agua (a_w) | 64 |
| 6.3.1.3. pH..... | 65 |
| 6.3.2. Cambios en la fracción proteica..... | 65 |
| 6.3.2.1. Proteolisis..... | 65 |
| 6.3.2.2. Fenómenos de desnaturalización y agregación proteica..... | 68 |
| 6.3.2.3. Evolución del nitrógeno no proteico | 68 |
| 6.3.2.4. Evolución del nitrógeno peptídico..... | 69 |
| 6.3.2.5. Evolución del nitrógeno aminoacídico..... | 70 |
| 6.3.3. Cambios en la fracción lipídica..... | 70 |
| 6.3.3.1. Lipolisis | 70 |
| 6.3.3.2. Oxidación lipídica..... | 71 |
| 6.3.4. Evolución de la microbiota..... | 72 |
| 6.3.5. Desarrollo de las características sensoriales | 73 |
| 6.3.5.1. Color..... | 73 |
| 6.3.5.2. Textura..... | 74 |
| 6.3.5.3. Flavor..... | 74 |
| IV. MATERIAL Y MÉTODOS | 77 |
| 1. ESQUEMA DEL TRABAJO EXPERIMENTAL | 79 |
| 2. MATERIAL BIOLÓGICO | 79 |
| 2.1. Caracterización de la Cecina de León | 79 |
| 2.2. Optimización del proceso de elaboración de la Cecina de León..... | 80 |
| 3. PLANIFICACIÓN DEL TRABAJO EXPERIMENTAL..... | 81 |
| 3.1. Caracterización de la Cecina de León | 81 |
| 3.2. Optimización del proceso de elaboración de la Cecina de León..... | 82 |
| 3.2.1. Influencia del peso y del tratamiento de la materia prima..... | 83 |
| 3.2.1.1. Experimento 1..... | 83 |
| 3.2.1.2. Experimento 2..... | 84 |
| 3.2.2. Influencia de la utilización de agentes de curado..... | 86 |
| 3.2.3. Influencia del tiempo de curado..... | 87 |

| | |
|--|------------|
| 4. ANÁLISIS | 88 |
| 4.1. Análisis microbiológicos | 89 |
| 4.1.1. <i>Preparación de la muestra</i> | 89 |
| 4.1.2. <i>Flora aerobia mesófila viable (FAMV)</i> | 89 |
| 4.1.3. <i>Enterobacterias</i> | 89 |
| 4.1.4. <i>Bacterias ácido lácticas (BAL)</i> | 89 |
| 4.1.5. <i>Micrococaceas</i> | 90 |
| 4.2. Análisis Físico-Químicos | 90 |
| 4.2.1. <i>Determinación de pH por punción</i> | 90 |
| 4.2.2. <i>Determinación de la actividad de agua (a_w)</i> | 90 |
| 4.2.3. <i>Determinación de la humedad</i> | 90 |
| 4.2.4. <i>Determinación de proteínas</i> | 91 |
| 4.2.5. <i>Determinación de grasa</i> | 92 |
| 4.2.6. <i>Determinación de cenizas</i> | 93 |
| 4.2.7. <i>Determinación de azúcares</i> | 93 |
| 4.2.8. <i>Determinación de hidroxiprolina</i> | 95 |
| 4.2.9. <i>Determinación de cloruros</i> | 96 |
| 4.2.10. <i>Determinación de nitritos</i> | 97 |
| 4.2.11. <i>Determinación de nitratos</i> | 98 |
| 4.2.12. <i>Determinación de minerales</i> | 99 |
| 4.2.13. <i>Determinación del perfil de ácidos grasos</i> | 99 |
| 4.2.14. <i>Determinación de los parámetros relacionados con la lipólisis</i> | 101 |
| 4.2.15. <i>Determinación de los parámetros relacionados con la proteólisis</i> | 103 |
| 4.2.15.1. <i>Nitrógeno no proteico (NNP)</i> | 103 |
| 4.2.15.2. <i>Nitrógeno aminoacídico (NA)</i> | 104 |
| 4.2.15.3. <i>Nitrógeno peptídico (NP)</i> | 105 |
| 4.2.16. <i>Electroforesis</i> | 105 |
| 4.3. Análisis de las propiedades sensoriales | 108 |
| 4.3.1. <i>Determinación del color instrumental</i> | 108 |
| 4.3.2. <i>Determinación de la textura instrumental</i> | 108 |
| 4.3.3. <i>Panel sensorial</i> | 110 |
| 4.3.3.1. <i>Prueba sensorial descriptiva</i> | 111 |
| 4.3.3.2. <i>Prueba sensorial discriminatoria. Prueba triangular</i> | 113 |
| 4.3.3.3. <i>Prueba sensorial afectiva. Prueba de preferencias</i> | 115 |
| 4.4. Análisis estadístico | 116 |
| V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 119 |
| 1. CARACTERIZACIÓN DE LA CECINA DE LEÓN | 121 |
| 1.1. <i>Características fisicoquímicos</i> | 121 |
| 1.2. <i>Características sensoriales</i> | 129 |
| 1.3. <i>Análisis de componentes principales</i> | 132 |
| 1.4. <i>Resumen</i> | 135 |

| | |
|--|------------|
| 2. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA CECINA DE LEÓN | 136 |
| 2.1. Influencia del peso y del tratamiento de la materia prima | 136 |
| 2.1.1. <i>Experimento 1: peso y tratamiento de la materia prima.....</i> | <i>136</i> |
| 2.1.1.1. <i>Características fisico-químicas.....</i> | <i>136</i> |
| 2.1.1.2. <i>Evaluación de la proteolisis.....</i> | <i>139</i> |
| 2.1.1.3. <i>Características sensoriales.....</i> | <i>141</i> |
| 2.1.1.4. <i>Resumen.....</i> | <i>144</i> |
| 2.1.2. <i>Experimento 2: materia prima congelada/descongelada.....</i> | <i>145</i> |
| 2.1.2.1. <i>Características microbiológicas.....</i> | <i>145</i> |
| 2.1.2.2. <i>Características fisico-químicas.....</i> | <i>147</i> |
| 2.1.2.3. <i>Evolución de la proteolisis y de la lipolisis.....</i> | <i>149</i> |
| 2.1.2.4. <i>Electroforesis SDS-PAGE</i> | <i>152</i> |
| 2.1.2.5. <i>Características sensoriales.....</i> | <i>155</i> |
| 2.1.2.6. <i>Resumen.....</i> | <i>159</i> |
| 2.2. Influencia de la utilización de agentes de curado | 160 |
| 2.2.1 <i>Características microbiológicas.....</i> | <i>160</i> |
| 2.2.2 <i>Características fisico-químicas.....</i> | <i>163</i> |
| 2.2.3. <i>Características sensoriales.....</i> | <i>165</i> |
| 2.2.4. <i>Resumen.....</i> | <i>168</i> |
| 2.3. Influencia del tiempo de curado | 169 |
| 2.3.1. <i>Características microbiológicas.....</i> | <i>169</i> |
| 2.3.2. <i>Características fisico-químicas.....</i> | <i>170</i> |
| 2.3.3. <i>Evaluación de la proteolisis y de la lipolisis.....</i> | <i>171</i> |
| 2.3.4. <i>Electroforesis SDS-PAGE</i> | <i>173</i> |
| 2.3.5. <i>Características sensoriales.....</i> | <i>175</i> |
| 2.3.6. <i>Análisis de componentes principales.....</i> | <i>180</i> |
| 2.3.7. <i>Resumen.....</i> | <i>183</i> |
| VI. CONCLUSIONES | 185 |
| 1. CONCLUSIONES..... | 187 |
| VII. BIBLIOGRAFÍA..... | 189 |
| 1. BIBLIOGRAFÍA..... | 191 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|-----|
| Figura 1. Evolución de la producción de Cecina de León..... | 35 |
| Figura 2. Evolución de las ventas de piezas enteras de Cecina de León..... | 35 |
| Figura 3. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de la Cecina de León.... | 42 |
| Figura 4. Etapa de perfilado en el proceso de elaboración de la Cecina de León.... | 43 |
| Figura 5. Etapa de salado en el proceso de elaboración de la Cecina de León..... | 43 |
| Figura 6. Etapa de lavado en el proceso de elaboración de la Cecina de León..... | 44 |
| Figura 7. Etapa de ahumado en el proceso de elaboración de la Cecina de León.... | 45 |
| Figura 8. Etapa de secado-maduración en el proceso de elaboración de la Cecina de León | 46 |
| Figura 9. Esquema general de la proteólisis en productos carnicos curados | 66 |
| Figura 10. Esquema de la distribución de las determinaciones analíticas realizadas para la caracterización de la Cecina de León | 82 |
| Figura 11. Esquema de la distribución de las determinaciones analíticas realizadas en el experimento 1 | 84 |
| Figura 12. Toma de muestra con un cilindro de acero inoxidable; hueco de la pieza relleno de manteca y muestra extraída para el análisis | 85 |
| Figura 13. Esquema de la distribución de las determinaciones analíticas realizadas en el experimento 2..... | 86 |
| Figura 14. Curva de calibrado para la cuantificación de la hidroxiprolina..... | 96 |
| Figura 15. Curva de calibrado para el cálculo del contenido de nitritos..... | 98 |
| Figura 16. Ejemplo de cromatograma obtenido en la determinación del perfil de ácidos grasos | 100 |
| Figura 17. Curva de calibrado para el cálculo del contenido de aminoácidos libres..... | 104 |
| Figura 18. Curva tipo obtenida en un análisis de perfil de textura instrumental (TPA) | 109 |
| Figura 19. Análisis instrumental de textura: cubos de muestras a analizar y realización del análisis del perfil de textura | 110 |
| Figura 20. Zona de preparación de muestra y sala de catas de la Estación Tecnológica de la Carne..... | 111 |
| Figura 21. Hoja de cata utilizada en el análisis sensorial descriptivo..... | 114 |
| Figura 22. Hoja de cata utilizada en la prueba triangular | 115 |
| Figura 23. Hoja de cata utilizada en la prueba de preferencia | 116 |
| Figura 24. Distribución de los parámetros (A) y de las muestras (B) en el análisis de componentes principales de los parámetros fisicoquímicos de la Cecina de León contra (▲), tapa (■) y babilla (○). | 133 |

Figura 25. Distribución de los parámetros (A) y de las muestras (B) en el análisis de los componentes principales de los parámetros sensoriales de la Cecina de León: contra (▲), tapa (■) y babilla (○). 134

Figura 26. Electroforesis SDS-PAGE de las proteínas miofibrilares extraídas, a lo largo del proceso de elaboración, de cecinas elaboradas a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de congelada/descongelada (C), separadas en gel de poliacrilamida con SDS 153

Figura 27. Evolución de las bacterias aerobias mesófilas y de las enterobacterias durante la elaboración de los diferentes lotes de cecina: (■) elaborada con sal (Lote A), (▲) elaborada con sal y nitratos (Lote B) y (●) elaborada con sal, nitratos y nitritos (Lote C)..... 161

Figura 28. Evolución de las micrococáceas y de las bacterias ácido

lácticas durante la elaboración de los diferentes lotes de cecina: (■) elaborada con sal (Lote A), (▲) elaborada con sal y nitratos (Lote B) y (●) elaborada con sal, nitratos y nitritos (Lote C)..... 162

Figura 29. Electroforesis SDS-PAGE de las proteínas miofibrilares extraídas de cecinas con diferente tiempo de curación (líneas 1 y 2: 210 días; líneas 3 y 4: 270 días; líneas 5 y 6: 360 días y línea 7: patrones de pesos moleculares conocidos). 173

Figura 30. Distribución de los parámetros (A) y de las muestras (B) en el análisis de componentes principales de los parámetros microbiológicos, físicoquímicos y sensoriales en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación: 360 días (▲), 270 días (■) y 210 días (●)..... 182

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|-----|
| Tabla 1. Características de las cecinas utilizadas en el estudio de caracterización de la Cecina de León..... | 80 |
| Tabla 2. Condiciones de elaboración de la Cecina de León..... | 81 |
| Tabla 3. Lotes establecidos en el estudio del efecto del peso y del tratamiento de la materia prima sobre las características de la Cecina de León..... | 83 |
| Tabla 4. Lotes establecidos en el estudio del efecto de la utilización de diferentes agentes de curado sobre el desarrollo de las características de la Cecina de León..... | 86 |
| Tabla 5. Lotes establecidos en el estudio del efecto del tiempo de curado sobre el desarrollo de las características de la Cecina de León..... | 87 |
| Tabla 6. Análisis realizados en el estudio del efecto del tiempo de curado sobre el desarrollo de las características de la Cecina de León..... | 88 |
| Tabla 7. Pesos moleculares de los patrones utilizados..... | 107 |
| Tabla 8. Valores de pH y a_w (media \pm desviación estándar) en cada uno de los tipos de cecina estudiados..... | 121 |
| Tabla 9. Composición química (media \pm desviación estándar) en cada uno de los tres tipos de cecina estudiados..... | 123 |
| Tabla 10. Valores medios \pm desviación estándar del contenido de ácidos grasos (% sobre el total de ácidos grasos identificados) en cada uno de los tipos de cecina estudiados..... | 127 |
| Tabla 11. Valores (media \pm desviación estándar) obtenidos en la evaluación del color y en los parámetros de textura en cada uno de los tipos de cecina estudiados..... | 130 |
| Tabla 12. Puntuaciones obtenidas (media \pm desviación estándar) en el análisis sensorial descriptivo en cada uno de los tipos de cecina estudiados (1-intensidad mínima, 5-intensidad máxima)..... | 131 |
| Tabla 13. Efecto del peso de las piezas (alto, bajo) y del método de conservación de la materia prima (refrigerada: R, congelada/descongelada: C) sobre las propiedades fisicoquímicas..... | 137 |
| Tabla 14. Efecto del peso de las piezas (alto, bajo) y del método de conservación de la materia prima (refrigerada: R, congelada/descongelada: C) sobre los parámetros relacionados con la proteólisis: nitrógeno no proteico (NNP), nitrógeno aminoacídico (NA) y nitrógeno peptídico (NP) (mg N/100g materia seca). | 139 |
| Tabla 15. Efecto del peso de las piezas (alto, bajo) y del método de conservación de la materia prima (refrigerada: R, congelada/descongelada: C) sobre el color y la textura instrumental del producto curado..... | 141 |

| | |
|--|-----|
| Tabla 16. Efecto del peso de las piezas (alto, bajo) y del método de conservación de la materia prima (refrigerada: R, congelada/descongelada: C) sobre las puntuaciones obtenidas en el análisis sensorial realizado con catadores entrenados, en el producto final (1: valor mínimo, 5: valor máximo)..... | 143 |
| Tabla 17. Recuentos microbianos (lg ufc/g) (valores medios) durante el proceso de elaboración de la cecina a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de materia prima congelada/descongelada (C)..... | 146 |
| Tabla 18. Evolución del contenido de humedad (%), NaCl (%), pH y a_w , durante el proceso de elaboración de la cecina a partir de materia prima refrigerada (R) y congelada/descongelada (C)..... | 147 |
| Tabla 19. Evolución de los parámetros relacionados con la proteólisis: nitrógeno no proteico (NNP), nitrógeno aminoacídico (NA) y nitrógeno peptídico (NP) (mg nitrógeno/100 g de extracto seco) durante el proceso de curado de la cecina elaborada a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de congelada/descongelada (C).. | 150 |
| Tabla 20. Evolución de los parámetros relacionados con la lipólisis: lípidos neutros (LN), fosfolípidos (PL) y ácidos grasos libres (AGL) (% ácidos grasos libres de cada fracción respecto al contenido total de ácidos grasos) durante el proceso de elaboración de la cecina a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de congelada/descongelada (C)..... | 151 |
| Tabla 21. Cantidad relativa* de las proteínas miofibrilares, durante el proceso de elaboración de la cecina a partir de materia prima refrigerada (R) y congelada/descongelada (C), separadas en gel de poliacrilamida con SDS)..... | 154 |
| Tabla 22. Parámetros instrumentales de color (L^* , a^* , b^*) a 0, 210 y 360 días en cecina elaboradas a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de materia prima congelada/descongelada (C)..... | 156 |
| Tabla 23. Valores obtenidos en la evaluación instrumental de la textura, desde el día 60 hasta el día 360, en cecina elaborada a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de materia prima congelada/descongelada (C)) | 157 |
| Tabla 24. Puntuaciones obtenidas en el análisis sensorial realizado con catadores entrenados en la cecina elaborada a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de materia prima congelada/descongelada (C), a los 360 días (1-intensidad mínima, 5-intensidad máxima)..... | 158 |
| Tabla 25. Evolución del pH, a_w y humedad (%) durante el proceso de elaboración de los tres lotes de cecina: elaborada con sal (Lote A), con sal y nitrato (Lote B) y con sal, nitrato y nitrito (Lote C)..... | 163 |
| Tabla 26. Evolución del NaCl (% materia seca), nitrato (ppm) y nitrito (ppm) durante el proceso de elaboración de los tres lotes de cecina: elaborada con sal (Lote A), con sal y nitrato (Lote B) y con sal, nitrato y nitrito (Lote C) | 164 |
| Tabla 27. Medida instrumental de los parámetros de color a los 210 y 360 días de | |

procesado en los tres lotes de cecina: elaborada con sal (Lote A), con sal y nitrato (Lote B) y con sal, nitrato y nitrito (Lote C).....166

Tabla 28. Puntuaciones de los parámetros sensoriales evaluados en los tres lotes de cecina: elaborada con sal (Lote A), con sal y nitrato (Lote B) y con sal, nitrato y nitrito (Lote C) a los 210 y 360 días (1-valor mínimo, 5-valor máximo)168

Tabla 29. Recuentos microbianos (lg ufc/g) (media ± desviación estándar) en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación169

Tabla 30. Valores (media ± desviación estándar) del pH, a_w y contenido de humedad (%) en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación.....170

Tabla 31. Valores (media ± desviación estándar) del contenido de grasa, proteína, NaCl, azúcares e hidroxiprolina (% sobre extracto seco) en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación171

Tabla 32. Valores (media ± desviación estándar) del nitrógeno no proteico (NNP), del nitrógeno aminoacídico (NA) y del nitrógeno peptídico (NP) en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación.....171

Tabla 33. Valores (media ± desviación estándar) de los lípidos neutros (LN), de los ácidos grasos libres (AGL) y de fosfolípidos (PL) en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación172

Tabla 34. Cantidad relativa* de las proteínas miofibrilares, en cecinas con diferente tiempo de curación), separadas en gel de poliacrilamida con SDS174

Tabla 35. Valores (media ± desviación estándar) obtenidos en la evaluación instrumental del color en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación.....175

Tabla 36. Valores (media ± desviación estándar) obtenidos en la evaluación de la textura instrumental en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación.....177

Tabla 37. Puntuaciones (media ± desviación estándar) obtenidas en el análisis sensorial realizado con catadores entrenados, de los parámetros visuales en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación (1-intensidad mínima, 5-intensidad máxima).....177

Tabla 38. Puntuaciones (media ± desviación estándar) obtenidas en el análisis sensorial realizado con catadores entrenados, de los parámetros de olor y flavor en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación (1-intensidad mínima, 5-intensidad máxima)178

Tabla 39. Puntuaciones (media ± desviación estándar) obtenidas en el análisis sensorial realizado con catadores entrenados, de los parámetros de textura en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación (1-intensidad mínima, 5-intensidad máxima).....179

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

| | |
|---|--|
| µg: microgramos. | KDa: kg dalton. |
| µl: microlitros. | L*: luminosidad. |
| a*: índice de rojo. | LN: lípidos neutros. |
| a.C.: antes de Cristo. | MAPA: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. |
| AGL: ácidos grasos libres. | ms: milisegundos. |
| a_w: actividad de agua. | MUFA: ácidos grasos monoinsaturados. |
| b*: índice de amarillo. | ND: no detectado. |
| BAL: bacterias ácido lácticas. | NA: nitrógeno aminoacídico. |
| BOCyL: Boletín Oficial de Castilla y León. | NNP: nitrógeno no protéico. |
| BOE: Boletín Oficial del Estado. | NP: nitrógeno peptídico. |
| CE: Comunidad Europea. | PL: fosfolípidos |
| DFD: carnes oscuras, firmes y secas. | PM: peso molecular. |
| DO: Diario Oficial de la Comunidades Europeas. | ppm: partes por millon. |
| DOUE: Diario Oficial de la Unión Europea. | PSE: carnes pálidas, blandas y exudativas. |
| EFSA: Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (European Food Safety Authority). | PUFA: ácidos grasos poliinsaturados. |
| Excal: Exportación de Castilla y León. | RD: Real Decreto. |
| FAMV: flora aerobia mesófila viable. | rpm: revoluciones por minuto. |
| h: horas. | SDS-PAGE: gel de policrilamida con dodecil sulfato sodico |
| HR: humedad relativa. | SFA: ácidos grasos saturados. |
| ICMSF: Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas de Alimentos. | TPA: análisis de perfil de textura. |
| IGP: Indicación Geográfica Protegida. | UE: Unión Europea. |
| ISO: Organización Internacional de Estandarización. | ufc: unidades formadoras de colonia. |
| | UNE: Una Norma Española. |
| | y col.: y colaboradores. |

RESUMEN

RESUMEN

La Cecina de León es un producto cárnico crudo curado, obtenido mediante el salazonado y la posterior maduración–deshidratación de distintos cortes anatómicos de la canal de vacuno mayor (babilla, tapa, contra y cadera), clasificados por el MAPA con la categoría de carne de primera. La calidad de este producto ha sido reconocida por la Unión Europea mediante su protección como Indicación Geográfica Protegida (IGP).

El hecho de pertenecer a una figura de calidad exige unas características propias y diferenciales que se obtienen tras una rigurosa selección de la carne de partida y un cuidado proceso de elaboración. Sin embargo, en el caso de la Cecina de León, la disponibilidad de la materia prima de partida es en muchos casos limitada, por lo que el industrial se ve obligado a congelar materia prima para poder disponer de lotes homogéneos. Por otro lado, hay que indicar que, aunque existe un reglamento correspondiente a la IGP Cecina de León, las condiciones de elaboración descritas en el mismo, permiten un cierto margen de actuación por parte de los industriales que elaboran este producto cárnico. Este hecho implica que en el mercado se encuentre Cecina de León con diferentes características. Por ello, y teniendo en cuenta la actual demanda de productos homogéneos y el hecho de que existen pocos estudios sobre la Cecina de León, en este trabajo de investigación se establecieron los siguientes objetivos: a) realizar la caracterización de la Cecina de León procedente de tres cortes anatómicos (babilla, tapa, contra) con el fin de determinar sus características físico-químicas y sensoriales y b) optimizar el proceso tecnológico de elaboración de la Cecina de León, en base a los siguientes parámetros: materia prima (alto peso/ bajo peso y refrigerada/ congelada), empleo de diferentes agentes de curado y utilización de distintos tiempos de curado.

Para la realización de este estudio se utilizaron un total de 115 piezas, 27 piezas de Cecina de León para la caracterización de este producto y 88 babillas frescas para la optimización del proceso de elaboración.

Los análisis realizados para la caracterización fueron: pH, actividad de agua (a_w), contenido en humedad, grasa, proteína, cenizas, carbohidratos, hidroxiprolina, y minerales, perfil lipídico, contenido en NaCl, en nitritos, color instrumental

Resumen

(luminosidad- L^* , índice de rojo- a^* e índice de amarillo- b^*), textura instrumental (dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad) y análisis sensorial descriptivo con un panel de catadores entrenados. Para la optimización del proceso de elaboración de la Cecina de León, en las diferentes etapas del proceso, además de los parámetros determinados en la caracterización, se analizaron parámetros relacionados con la proteólisis y la lipólisis así como la evolución de la flora microbiana (flora aerobia mesófila, enterobacterias, bacterias ácido lácticas y micrococáceas) y se realizaron diferentes pruebas triangulares y de preferencia con un panel de 100 consumidores.

Los resultados obtenidos en la caracterización de la Cecina de León, mostraron, en primer lugar que, los distintos cortes anatómicos (babilla, tapa, contra) utilizados como materia de partida para la elaboración de Cecina de León, influyen en las características fisicoquímicas y sensoriales del producto final y permiten su diferenciación. Las principales diferencias se encontraron en la composición, siendo la cecina elaborada a partir de piezas de contra la que presentó un mayor contenido de humedad, de grasa y de hidroxiprolina, lo cual influyó en las características sensoriales. También la cecina elaborada a partir de esta pieza presentó una textura notablemente diferente de la cecina que se elabora a partir de la babilla y de la tapa. Por otra parte, se observaron diferencias en cuanto al perfil de ácidos grasos, siendo la grasa de la contra, la que se aproximaba más a las recomendaciones nutricionales.

En relación a la optimización del proceso de elaboración de la Cecina de León, los estudios realizados para evaluar la influencia del peso de la materia prima de partida y de la congelación/descongelación indicaron que tanto la congelación de la carne utilizada para la elaboración de la Cecina de León, como el peso de las piezas utilizadas influye en el mismo, sobre todo en el proceso de proteólisis que tiene lugar, siendo más intenso dicho proceso en la cecina que se elabora a partir de materia prima congelada y de piezas de mayor peso. Como consecuencia, las propiedades sensoriales obtenidas en el producto final se modificaron, presentando este tipo de cecinas un mayor flavor y una mayor jugosidad y masticabilidad. Además, la congelación de la materia prima no afectó a las características microbiológicas ni de la carne fresca, ni de la cecina, confirmándose que la flora predominante de la Cecina de León está constituida por bacterias ácido lácticas y micrococáceas.

En lo que respecta al efecto del uso de diferentes agentes de curado en el desarrollo de las características de la Cecina de León a lo largo del proceso de elaboración, los resultados obtenidos indican que el empleo de diferentes agentes curado (sal; sal y nitrato; sal, nitrato y nitrito) no implicó diferencias en los parámetros microbiológicos, físico-químicos y en el color evaluado instrumentalmente. El análisis realizado con panel de catadores entrenado mostró que la intensidad de color a los 210 días, en las muestras elaboradas sin nitratos ni nitritos, fue menor; estas diferencias no se detectaron a los 360 días. Por ello, si se elabora cecina sin la incorporación de agentes de curado, tanto para obtener unas buenas características respecto al color como una actividad de agua que garantice la seguridad microbiológica del producto es conveniente un periodo de maduración largo (360 días).

Finalmente, en el estudio del efecto del tiempo de curado, se puso de manifiesto que la maduración de la Cecina de León desde 210 a 360 días determinó modificaciones progresivas de parámetros físico-químicos y microbiológicos, así como de las propiedades sensoriales; sin embargo, a partir de los 9 meses (270 días) de procesado estos cambios no mejoraron la calidad sensorial.

Desde el punto de vista tecnológico, y de forma global, en la presente Tesis Doctoral se ha puesto de manifiesto la posibilidad de utilizar materia prima congelada para obtener una cecina de buena calidad sensorial y la posibilidad de prescindir o reducir la cantidad de agentes de curado sin que se vean afectadas negativamente las propiedades sensoriales de la cecina; así como la conveniencia de prolongar el tiempo de curado de la Cecina de León por encima de los 7 meses que establece la IGP, para mejorar sus propiedades sensoriales.

I. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN Y PLANTEAMIENTO

La Cecina de León es un producto cárnico crudo curado, obtenido mediante el salazonado y la posterior maduración–deshidratación de distintos cortes anatómicos (babilla, tapa, contra o cadera) de la canal de vacuno mayor, clasificados por el MAPA con la categoría de carne de primera.

Al tratarse de un producto con larga tradición histórica, de elaboración tradicional y de elevada calidad, se propuso que la Cecina de León fuera incluida dentro de los productos cárnicos con denominación de calidad de Castilla y León. Así, en 1993 (BOCyL, 1993) se reconoció, con carácter provisional, la Denominación Específica Cecina de León y en 1994 se aprobó su reglamento (Orden de 17 de enero de la Consejería de Agricultura de la Junta de Castilla y León, BOCyL 1994). Posteriormente, tras su inclusión en el Registro de Denominaciones de la Unión Europea (DO, 1996), pasó a considerarse como Indicación Geográfica Protegida (IGP) Cecina de León. Esta figura de calidad, reconocida en todo el ámbito de la Unión Europea, identifica un producto alimenticio que presenta características específicas y homogéneas.

La elaboración de la Cecina de León, centrada en la provincia de León, está sometida a variaciones según la zona y tipo de industria. Así, aunque existe un reglamento correspondiente a la IGP Cecina de León, las condiciones de elaboración descritas en el mismo, permiten un cierto margen de actuación a los industriales que elaboran este producto cárnico. Por ello, teniendo en cuenta la actual demanda de productos homogéneos y el hecho de que existen pocos estudios sobre la Cecina de León, resultan de gran interés el estudio de sus características fisicoquímicas y sensoriales, y el de la influencia de diferentes parámetros en la elaboración con objeto de favorecer la calidad y la homogeneidad del producto final.

En los últimos años, según los datos proporcionados por el Consejo Regulador de la IGP (comunicación personal), la producción de Cecina de León está aumentando. Esto hace que la disponibilidad de materia prima homogénea cada vez sea menor, por lo que los productores de Cecina de León se ven obligados a buscar materia prima fuera de la zona de elaboración o a utilizar materia prima con peso

Introducción

heterogéneo. Por tanto, resulta de gran interés el estudio del empleo de materia prima con diferente peso en la elaboración de Cecina de León, para conocer si dicha práctica además de suponer una disminución en el tiempo total de elaboración, implica o no una disminución en la calidad del producto. Por otro lado, con el fin de obtener lotes homogéneos, una práctica habitual es congelar la materia prima. Dado que hasta el momento no se ha realizado ningún estudio del efecto de la congelación en la calidad de la Cecina de León, resulta interesante estudiar la evolución del proceso de elaboración a partir de materia prima congelada con objeto de determinar posibles modificaciones en las características fisicoquímicas y sensoriales que definen a este producto.

El uso de nitratos y nitritos es habitual en la elaboración de productos cárnicos curados, tanto por su actividad antimicrobiana como por su contribución al desarrollo de las características sensoriales. Recientemente, se ha revisado la legislación referente al uso de estos aditivos. Inicialmente, la Directiva 95/2/CE (DO, 1995), transpuesta a la legislación española en el RD. 142/2002 (BOE; 2002), determinaba que la dosis máxima añadida de nitritos (E-249, E-250) en productos cárnicos crudos curados era 150 ppm y la dosis residual permitida en el producto acabado era 50 ppm. En el caso de los nitratos (E-251, E-252) se establecía la dosis máxima añadida en 300 ppm y la cantidad residual en el producto acabado en 250 ppm. Esta normativa se ha modificado con la Directiva 2006/52/CE (DOUE, 2006a), transpuesta a la legislación española en el RD 1118/2007 (BOE, 2007), en la que como norma general se establece que las cantidades máximas de nitritos y nitratos que pueden añadirse son de 150 ppm, si bien se contemplan excepciones para productos cárnicos tradicionales, en los que es la dosis residual en producto terminado la que se limita. En el caso de la cecina este límite se establece en 250 ppm para los nitratos y en 100 ppm para los nitritos. Sin embargo, la tendencia del consumo hacia alimentos sin aditivos, hace que en el mercado se puedan encontrar tanto productos cárnicos curados sin nitratos ni nitritos añadidos, como productos cárnicos curados que incluyen estos aditivos. Por ello, se ha considerado de interés el estudio del efecto de la utilización de diferentes agentes de curado sobre el desarrollo de las características propias de la Cecina de León.

Por último, hay que indicar que el Reglamento de la IGP Cecina de León recoge que el tiempo mínimo de curado de las piezas debe ser de 7 meses desde la entrada de las mismas a la etapa de salazón, pero deja sin establecer la duración óptima del

Introducción

proceso madurativo. Esto hace que en el mercado haya piezas que han sido sometidas a periodos de maduración desde 7 meses hasta tiempos superiores. Algunos estudios científicos han demostrado que, en las salazones cárnicas, el desarrollo de las características organolépticas en un tiempo de maduración más largo, podría permitir un desarrollo más amplio de todos los caracteres de estos productos y favorecer reacciones en las que intervienen los componentes responsables del aroma y el sabor (Durand, 2002). Por ello, se considera interesante estudiar las características de la Cecina de León con diferentes tiempos de curado, debido a la necesidad de optimizar el tiempo de maduración, para poder establecer en el reglamento un tiempo de curado óptimo y así obtener un producto con un mayor valor añadido.

II. OBJETIVOS

1. OBJETIVOS

Teniendo en cuenta la importancia que está cobrando la Cecina de León en el sector cárnico español y la escasez de estudios sobre este producto, los objetivos planteados en esta Tesis Doctoral fueron los siguientes:

1. Realizar la caracterización de la Cecina de León en base a parámetros fisicoquímicos y sensoriales y, establecer las posibles diferencias atribuibles a la utilización de distintos cortes anatómicos (babilla, tapa y contra) como materia prima de partida.
2. Optimizar el proceso de elaboración de la Cecina de León en base a los siguientes parámetros: materia prima (alto/bajo peso de las piezas y refrigeración/ congelación-descongelación de las piezas), utilización de distintos agentes de curado y diferentes tiempos de curado. Para ello, este objetivo se dividió en los siguientes objetivos parciales:
 - Estudiar la influencia de la utilización de piezas de diferente peso (alto o bajo peso) y con diferente tratamiento previo (refrigeración o congelación-descongelación) sobre las propiedades fisico-químicas y sensoriales de la Cecina de León.
 - Evaluar la influencia de la utilización de materia prima refrigerada o congelada en las diferentes etapas del proceso de elaboración de la Cecina de León.
 - Estudiar la influencia de la utilización de diferentes agentes de curado a lo largo del proceso de elaboración y sobre las características de la Cecina de León.
 - Estudiar la influencia del tiempo de curado en el desarrollo de las características microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales de la Cecina de León y establecer el tiempo óptimo que permita obtener un producto de una mayor calidad

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. SALAZONES CÁRNICAS

Según el Real Decreto 379/1984 (BOE, 1984) las salazones cárnicas se definen como “las carnes y productos de despiece no picados sometidos a la acción adecuada de sal común y demás ingredientes autorizados propios de la salazón, ya sea en forma sólida o de salmuera, que garantice su conservación para el consumo”.

Probablemente, el empleo de la sal combinado con la acción del frío y el fuego fue uno de los primeros métodos de conservación utilizados, estableciéndose de este modo, las bases y fundamentos del proceso actual de elaboración de las salazones cárnicas. En la elaboración de este tipo de productos, además de la incorporación de sal y de otros ingredientes minoritarios a la carne, se aplican tratamientos complementarios como la fermentación, el adobado, el ahumado, la cocción, el secado, etc. que permiten la conservación de los mismos. Concretamente, el salazonado y el secado son los dos procedimientos más comunes de conservación a largo plazo.

Dentro de las salazones cárnicas más conocidas destacan el jamón curado de cerdo blanco y el de cerdo Ibérico. Ambos productos conllevan procesos de elaboración similares (perfilado, salado, post-salado, secado y maduración), difiriendo, principalmente, en la materia prima de partida.

Otro grupo, cada vez con mayor difusión, son las cecinas elaboradas a partir de diferentes especies animales, en zonas muy concretas de España, siguiendo un proceso de elaboración similar al del jamón curado. Dentro de este grupo cabe destacar (Zumalacárregui y col., 2001):

- La cecina de vacuno, producto cárnico tradicional obtenido a partir de distintos cortes anatómicos de los cuartos traseros de la canal de vacuno mayor. Dentro de este tipo de cecinas la más conocida es la Cecina de León, elaborada en la provincia de León.
- La cecina de chivo o cecina de castrón que se elabora a partir de los cuartos delanteros y traseros, el pescuezo y los lomos de cabras y machos cabríos, principalmente en municipios del norte de la provincia de León.

Revisión bibliográfica

- La cecina de equino, que se elabora a partir de carne de caballo, y en menor cuantía, de mulo y burro, en determinadas zonas de la provincia de Palencia.

A estas producciones de cecina de vacuno, caprino y equino se unen otras producciones minoritarias, aunque cada vez más presentes en el mercado por su originalidad y aportación sensorial, como son la cecina de ciervo, la cecina de oveja, la cecina de conejo y la cecina de pato.

2. EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LA CECINA DE LEÓN

La cecina ha sido conocida desde tiempos antiguos. Así, las primeras referencias escritas datan del siglo IV a.C., destacando el “Tratado Agrícola” de Lucio Junio Moderato Columela, en el cual ya se describe el proceso de elaboración de la cecina. Posteriormente, la cecina se cita en obras universales de nuestra literatura como en “El ingenioso Hidalgo Don Quijote de la Mancha”, “La pícaro Justina” y en “Fray Gerundio de Campazas”. Comúnmente, este producto ha sido elaborado en diferentes zonas geográficas del norte español, siendo la provincia de León donde mayor reconocimiento ha tenido.

Al tratarse de un producto con larga tradición histórica, de elaboración tradicional y de elevada calidad, se propuso que la cecina elaborada en León fuera acogida dentro de los productos cárnicos con denominación de calidad de Castilla y León. Así, en 1993 se reconoció con carácter provisional la Denominación Específica Cecina de León, siendo el 17 de enero de 1994 cuando se aprobó su reglamento, mediante una Orden de la Consejería de Agricultura de la Junta de Castilla y León (BOCyL, 1993, 1994). Posteriormente, y tras su inclusión en el Registro de Denominaciones de la UE (DO, 1996), pasó a considerarse como “Indicación Geográfica Protegida (IGP) Cecina de León”.

Actualmente, la producción de Cecina de León ha evolucionado, y a pesar de que su elaboración se realiza a escala industrial, se siguen manteniendo prácticas artesanales.

En los últimos años, según los datos proporcionados por el Consejo Regulador de la IGP (comunicación personal), la producción de Cecina de León muestra una tendencia ascendente (Figura 1). De igual modo, la tendencia de las ventas de

piezas enteras es al alza (Figura 2) (Rubio, 2006), y además, las ventas en trozos y lonchas actualmente suponen aproximadamente 25.000 piezas.

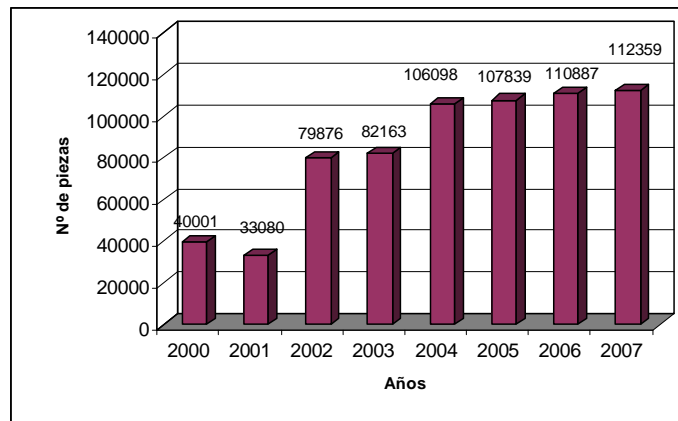


Figura 1. Evolución de la producción de Cecina de León. Fuente: IGP Cecina de León (2008).

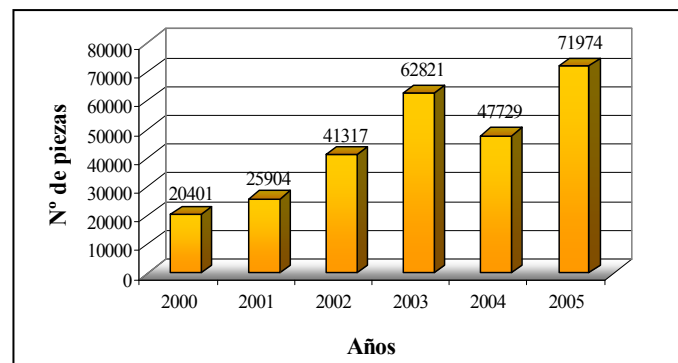


Figura 2. Evolución de las ventas de piezas enteras de Cecina de León. Fuente: Rubio (2006).

De acuerdo con datos aportados por el Consejo Regulador de la IGP Cecina de León, en el año 2008, las 23 industrias elaboradoras de Cecina de León asociadas a la IGP, marcaron 112.359 piezas, de las cuales el 90% se destinaron al mercado nacional, y el resto a países pertenecientes a la Unión Europea (UE) y a países terceros. En España, la distribución y venta de Cecina de León se centra fundamentalmente en los mercados de Castilla y León, Madrid, Asturias, Galicia,

Revisión bibliográfica

Cataluña, el País Vasco y Cantabria. Cabe destacar que, de acuerdo con los datos aportados por Zumalacérregui y col. (2001), la Cecina de León ha experimentado un aumento en sus exportaciones a países de la UE, desde el 3 hasta el 7,8%. Los países donde principalmente se centra el mercado de la Cecina de León son Bélgica, Italia, Reino Unido y Francia (Rubio, 2006). Además, actualmente, algunos elaboradores de este producto, con objeto de ampliar sus mercados, han tomado la decisión de producir cecina con certificación Halal, es decir, elaborada de acuerdo con la ley islámica, para su posterior exportación a países árabes.

3. CECINA DE LEÓN. INDICACIÓN GEOGRÁFICA PROTEGIDA

De acuerdo con el Reglamento (CE) 510/2006, de 20 de marzo de 2006 (DOUE, 2006b), sobre protección de las indicaciones geográficas y de las denominaciones de origen de los productos agrícolas y alimenticios, se define IGP como: “el nombre de una región, de un lugar determinado o, en casos excepcionales, de un país, que sirve para designar un producto agrícola o un producto alimenticio, originario de dicha región, de dicho lugar determinado o de dicho país, que posea una cualidad determinada, una reputación u otra característica que pueda atribuirse a dicho origen geográfico, y cuya producción, transformación o elaboración se realicen en la zona geográfica delimitada”.

En concreto, la IGP Cecina de León se creó con objeto de garantizar la calidad de la cecina elaborada en la provincia de León, producto que cuenta con unas características propias y diferenciadas. Así, en 1994 se aprobó el Reglamento de la Denominación Específica “Cecina de León” y de su Consejo Regulador (BOCyL, 1994). Los requerimientos establecidos en dicho reglamento se detallan a continuación.

3.1. ÁREA GEOGRÁFICA

La zona de elaboración de Cecina de León comprende única y exclusivamente la provincia de León situada en el extremo de la Meseta Norte, limitada por los Picos de Europa y el Macizo Galaico Leonés. Su altitud media está en torno a los 700 m, lo que implica un clima extremo, con inviernos muy fríos y secos, y veranos calurosos. Las características geográficas y climáticas de esta provincia

condicionan la agricultura y ganadería, y permiten la elaboración de carnes secas y curadas como la cecina.

3.2. RAZAS

Según el Reglamento de la IGP Cecina de León (artículo 5 del Capítulo II), la carne que se utilice para la elaboración de la Cecina de León procederá del despiece de los cuartos traseros de ganado vacuno mayor, de un mínimo de cinco años de edad y de un peso mínimo en vivo de 400 Kg, preferentemente, de razas autóctonas de la Comunidad Autónoma de Castilla y León.

3.3. MATERIA PRIMA

En el artículo 5 del Capítulo II de este reglamento se establece que las piezas a partir de las cuales se elabora la Cecina de León son:

- **Tapa:** masa carnosa, de forma cónica, aunque plana mediolateralmente. Está formada por los músculos mediales del muslo, concretamente el músculo sartorio, pectíneo, gracilis, aductor, semimembranoso, cuadrado del muslo y porción extra pélvica de músculo obturador externo.
- **Contra:** pieza formada por la contra propiamente dicha y el redondo, que adopta una forma de prisma triangular algo cilíndrico. El redondo está formado exclusivamente por el músculo semitendinoso y la contra por el músculo gluteobíceps.
- **Babilla:** pieza de forma ovoidal, integrada por los componentes de músculo cuadrado del muslo (músculo recto del muslo y vaso lateral, intermedio y medial).
- **Cadera:** pieza de forma triangular, comprende el músculo glúteo medio, accesorio y profundo, así como los músculos gemelos de la cadera.

Los pesos mínimos de cada una de estas piezas para ser destinadas a la elaboración de Cecina de León, son los siguientes: 8 Kg para la tapa, 10 Kg para la contra, 7 Kg para la babilla y 6 Kg para la cadera.

3.4. PARTICULARIDADES DEL PROCESO DE ELABORACIÓN

El proceso de elaboración de la Cecina de León consta de seis operaciones (artículo 10.1 del Capítulo II del Reglamento de la IGP Cecina de León): perfilado, salado, lavado, asentamiento, ahumado (opcional) y secado o curación.

- El **perfilado** permite ajustar la forma de las piezas.
- El **salado** tiene por finalidad la incorporación de sal común a la masa muscular, favoreciendo la deshidratación de las piezas y su perfecta conservación, además de contribuir al desarrollo del color y aroma típicos de los productos curados. A este fin, las piezas se cubren con sal marina de grano grueso, apiladas según los sistemas tradicionales.
El tiempo de salazón ha de tener una duración de 0,3-0,6 días por Kg de peso, y el proceso de salado tendrá lugar a una temperatura entre 2-5 °C, y una humedad relativa entre el 80-90%.
- **Lavado**: transcurrida la fase de salado, se lavan las piezas con agua potable, templada o tibia, con objeto de eliminar la sal adherida en la superficie.
- **Asentamiento**: etapa cuya duración oscila entre 30 y 45 días. Esta fase tiene por finalidad eliminar el agua de constitución, hacer penetrar la sal de una manera homogénea y uniforme, favorecer el desarrollo de la microflora característica y canalizar los procesos bioquímicos de hidrólisis enzimática que producirán el aroma y sabor característicos. Al eliminarse lenta y paulatinamente el agua superficial, las piezas adquieren una mayor consistencia.
- **Ahumado**: las piezas se ahuman utilizando leña de roble o encina. La duración de esta fase está comprendida entre 12 y 16 días.
- **Secado o curación**: en esta fase se procede a la clasificación de las piezas según peso y conformación. Esta fase se realiza en secaderos naturales, que permitan controlar tanto la temperatura como la humedad mediante el sistema tradicional de “abrir y cerrar ventanas”. En estos locales o en bodegas permanecerán las cecinas hasta completar su maduración.

Todo este proceso tendrá una duración mínima de siete meses contados a partir de la entrada en salazón (artículo 11 del Capítulo II del Reglamento de la IGP Cecina de León).

3.5. CARACTERÍSTICAS DE LA CECINA DE LEÓN

Al término del proceso de elaboración, la Cecina de León presentará las siguientes características (artículo 12 del Capítulo III del Reglamento de la IGP Cecina de León):

- **Peso:** El peso mínimo de cada uno de los diferentes tipos de piezas de cecina será: 4 Kg para la tapa, 5 Kg para la contra, 3,5 Kg para la babilla y 3 Kg para la cadera.
- **Aspecto exterior típico:** la cecina tendrá un color tostado, pardo, ligeramente oscuro, propio del proceso de elaboración.
- **Coloración y aspecto del corte:** la cecina tendrá distintas tonalidades de color, desde un color cereza a granate, acentuándose éste en los bordes al final del proceso madurativo, y presentará un ligero veteado de grasa, que le proporciona su jugosidad característica.
- **Sabor y aroma:** carne de sabor característico, poco salada, de consistencia poco fibrosa. El efecto que resulta del ahumado aporta en el proceso de maduración un aroma característico, apoyando el conjunto de sabores.
- **Forma de presentación de las piezas:** las piezas se presentarán enteras, envueltas o enfundadas, o se presentarán en porciones o lonchas envasadas al vacío, o en otros sistemas que apruebe el Consejo Regulador.

3.6. CERTIFICACIÓN Y ASPECTOS LEGALES

En el artículo 3 del Capítulo I del Reglamento de la IGP Cecina de León se establece que, “la defensa de la IGP, la aplicación de su reglamento, la vigilancia del cumplimiento del mismo, así como el fomento y el control de la calidad del producto amparado quedan encomendados al Consejo Regulador de la IGP, a la Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León y a la Dirección General de Política Alimentaria del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, en el ámbito de sus respectivas competencias”.

El Consejo Regulador llevará un Registro de Industrias elaboradoras. En dicho registro se inscribirán aquellas industrias que estén situadas en la zona de elaboración y que el Consejo Regulador considere aptas para elaborar cecinas que puedan optar a ser protegidas por la IGP Cecina de León.

Revisión bibliográfica

Para la vigencia de las inscripciones en el Registro de Industrias elaboradoras será indispensable cumplir, en todo momento, con los requisitos que impone el reglamento, debiéndose comunicar al Consejo Regulador cualquier variación que afecte a los datos suministrados en la inscripción. El Consejo Regulador podrá suspender o anular las inscripciones cuando los titulares de las mismas no se atuvieran a tales prescripciones. Además, el Consejo Regulador efectuará inspecciones periódicas para comprobar la efectividad de cuanto se dispone en el párrafo anterior.

Las piezas de vacuno con destino a la elaboración de cecinas amparadas por la IGP Cecina de León sólo podrán proceder de establecimientos cárnicos autorizados (mataderos y salas de despiece), que tengan en vigor sus correspondientes registros. Para ello, el Consejo Regulador dispondrá de un listado de establecimientos que proporcionen piezas con destino a la IGP Cecina de León.

Terminado el proceso de maduración de una partida de cecinas, el industrial lo comunicará al Consejo Regulador a efectos de que el Comité de Calificación realice la preceptiva visita de reconocimiento y dictamine si las piezas son aptas para ser amparadas por la IGP Cecina de León. En caso afirmativo, se colocará en cada una de las cecinas, un precinto que garantice que el producto está protegido por la IGP Cecina de León. La colocación de los precintos se realizará en el propio secadero, de acuerdo con las normas que dicte el Consejo Regulador, y siempre de forma que no permita una segunda utilización.

Todas las cecinas con denominación IGP Cecina de León que se expidan para el consumo, deberán ir provistas del precinto numerado expedido por el Consejo Regulador. En él figurará el nombre IGP Cecina de León y el tipo de pieza del que se trata (tapa, contra, babilla o cadera). Antes de la puesta en circulación de las etiquetas, éstas deberán ser autorizadas por el Consejo Regulador. Será denegada la aprobación de aquellas etiquetas que, por cualquier causa, puedan dar lugar a confusión en el consumidor. Del mismo modo, podrá ser anulada una autorización ya concedida anteriormente, cuando hayan variado las circunstancias de la firma propietaria de la misma, previa audiencia de la firma interesada.

El Consejo Regulador podrá autorizar a las industrias inscritas la comercialización de cecinas envueltas o enfundadas, o presentadas en porciones o lonchas envasadas al vacío, estableciendo a tal efecto el adecuado sistema de

control que garantice la procedencia del producto, su origen y calidad, así como su perfecta conservación y adecuada presentación al consumidor.

Toda pieza que por cualquier causa presente defectos, alteraciones sensibles, o que en su producción se haya incumplido los preceptos del Reglamento IGP Cecina de León o la legislación vigente, será descalificada por el Consejo Regulador, lo que llevará consigo la pérdida de la denominación IGP Cecina de León o el derecho de la misma en caso de piezas no definitivamente elaboradas. La descalificación de las piezas de cecina podrá ser realizada por el Consejo Regulador en cualquier fase de su elaboración y a partir del inicio del expediente de descalificación deberán permanecer debidamente controladas por los servicios de inspección, hasta su expedición en el mercado, que en ningún caso podrá ser con denominación específica, debiendo constar esta circunstancia en un libro-registro.

4. PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA CECINA DE LEÓN

La elaboración de la Cecina de León consiste en el salazonado, ahumado y secado de diferentes piezas de vacuno mayor, con el fin de obtener un producto estable a largo plazo y con unos atributos organolépticos característicos. En la Figura 3 se muestra el diagrama de flujo del proceso de elaboración de la Cecina de León. Aunque el método de elaboración de la Cecina de León está sometido a pequeñas variaciones dependiendo de la zona de elaboración y del tipo de industria, en general, las etapas del proceso son similares en las diferentes zonas de producción.

Las piezas que normalmente se utilizan para la elaboración de Cecina de León son la babilla, la tapa y la contra. La cadera supone menos del 5% de la producción (García-Herrero, 1994).

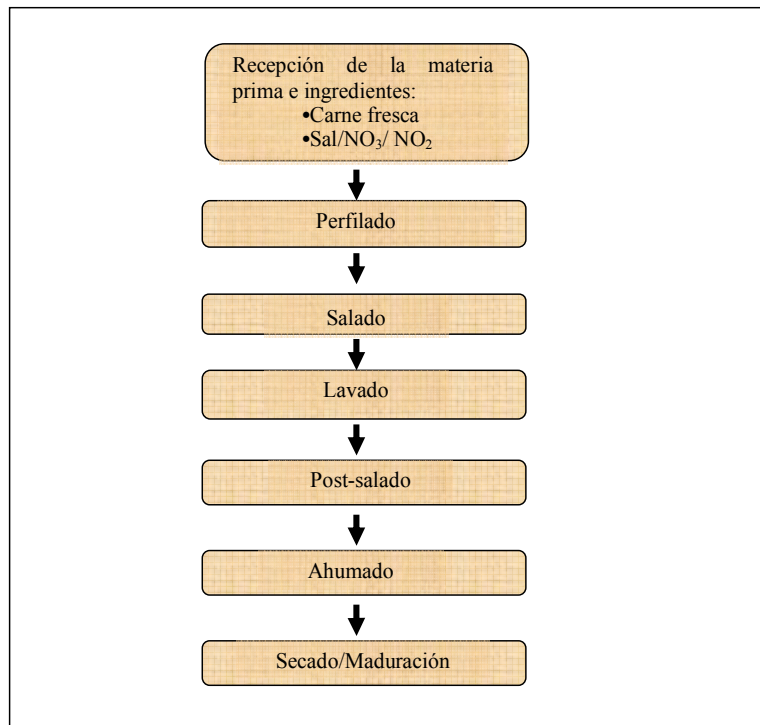


Figura 3. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de la Cecina de León.

4.1. PREPARACIÓN DE LA MATERIA PRIMA. PERFILADO

Una vez recepcionadas las piezas se perfilan para darles la forma típica. El objetivo de esta etapa es ajustar las piezas cárnicas a su forma característica, eliminando algunas partes de los músculos, vasos sanguíneos, tendones, etc. (Figura 4).

Una vez perfilada la pieza, se procede al sangrado de la misma presionando desde la parte más estrecha hasta la parte más voluminosa, consiguiendo así, la salida de la mayor cantidad de sangre posible del interior. De esta manera, se disminuye el riesgo de alteraciones microbianas durante el procesado, ya que la presencia de sangre favorece el crecimiento de los microorganismos. Este paso se puede realizar de forma manual o bien con dispositivos mecánicos, que presionan automáticamente la pieza. Esta etapa debe llevarse a cabo a temperaturas entre 0 y 5°C.



Figura 4. Etapa de perfilado en el proceso de elaboración de la Cecina de León.

4.2. SALAZONADO

El salado tiene como finalidad la incorporación de la sal común a la masa muscular, y de otros compuestos como nitratos y nitritos, con el fin de incrementar su capacidad de conservación y conferir un color típico y un aroma característico al producto final.



Figura 5. Etapa de salado en el proceso de elaboración de la Cecina de León.

En relación a la duración de esta etapa, según el Reglamento de la IGP Cecina de León, el tiempo de salazón tendrá una duración mínima de 0,3 días y máxima de 0,6 días por Kg de peso. Las condiciones termohigrométricas a las que se debe mantener la cámara donde se lleva a cabo este proceso son: temperatura de refrigeración (2-5°C) para inhibir el crecimiento de bacterias indeseables, y humedad relativa alta (80-90%), para evitar el acortezamiento de las piezas.

4.3. LAVADO DE LAS PIEZAS

Una vez finalizada la etapa de salazón, se procede al lavado y/o cepillado de las piezas, con agua potable templada o tibia, con la finalidad de eliminar el exceso de sal superficial y las posibles impurezas (Figura 6). Posteriormente, se realiza un secado rápido de las piezas de cecina para evitar el crecimiento de una población microbiana indeseable que estaría favorecido por una humedad superficial elevada. Cada vez es más habitual la mecanización de este proceso mediante frotado mecánico y aspersión de agua templada a presión.



Figura 6. Etapa de lavado en el proceso de elaboración de la Cecina de León.

4.4. POSTSALADO

Esta etapa, conocida también como fase de reposo, equilibrado o asentamiento tiene como finalidad la distribución homogénea de la sal y de los agentes de curado. En los procesos de elaboración industrial esta fase se realiza en cámaras con control de temperatura y de humedad relativa. Se lleva a cabo a una temperatura de entre 3-5 °C y una humedad relativa de 85-90%. El tiempo de permanencia oscila entre 30 y 45 días. Durante esta fase es necesario el uso de bajas temperaturas, ya que el producto no ha alcanzado una actividad de agua suficientemente baja como para evitar el crecimiento de microorganismos potencialmente peligrosos.

4.5. AHUMADO

El ahumado es, junto con la salazón y la deshidratación, uno de los procesos más antiguos de conservación de los alimentos. Consiste en someter al producto a la acción de los gases que se desprenden de la combustión de diversos vegetales, generalmente maderas.

En la elaboración de la Cecina de León, la etapa de ahumado (Figura 7) es opcional. Se realiza con leña de roble o encina, que son maderas duras que aportan al producto un color externo amarillo-pardo y un sabor característico. La duración de esta fase es de 12-16 días, oscilando la temperatura entre 12-15 °C y la humedad relativa entre el 75-80% (Reglamento de la IGP Cecina de León, 1994).



Figura 7. Etapa de ahumado del proceso de elaboración de la Cecina de León.

4.6. SECADO-MADURACIÓN

El objetivo de esta etapa es eliminar el agua de las piezas para conseguir un producto estable. Esta etapa se realiza en secaderos donde la ventilación, la humedad y la temperatura son los principales factores que regulan la pérdida de agua. Puede utilizarse bien secaderos naturales, provistos de ventanas con aperturas regulables o secaderos artificiales donde se realiza un secado en ciclos, aumentando la temperatura y disminuyendo la humedad a medida que el producto se va secando (Figura 8).

Revisión bibliográfica

Generalmente, se realiza una fase inicial de secado, durante unos 40 días, a una temperatura de 10-12 °C y con una humedad relativa de 75-80%, a la que sigue una fase de maduración en bodega, durante un mínimo de 60 días, en ambiente seco y templado (García y col., 1995).



Figura 8. Etapa de secado-maduración en el proceso de elaboración de la Cecina de León.

La duración de la fase de secado-maduración es clave en la calidad del producto final, estableciéndose diferencias entre las cecinas con un largo periodo madurativo (mayor de 1 año) y aquellas que a los tres o cuatro meses de secado están ya listas para su comercialización. En el caso de las cecinas amparadas por la IGP Cecina de León, el periodo de secado-maduración debe ser al menos de siete meses desde la salazón.

5. INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA EN LA CECINA

En diversos estudios se ha puesto de manifiesto que las características de la materia prima condicionan el proceso tecnológico e influyen en las propiedades de los productos cárnicos crudos curados.

5.1. RAZA, SEXO Y ALIMENTACIÓN

El efecto de la raza va a condicionar el tipo y características de la canal obtenida y por lo tanto, la composición química de la carne, presentando las razas de madurez precoz, un mayor contenido graso que aquellas de madurez tardía, cuando

se comparan animales con la misma edad (Vieira, 2003). Perry y col. (1998) pusieron de manifiesto que el efecto de la raza en la composición química de la grasa se debe a la diferente precocidad de las razas y a las diferencias interraciales en la actividad de las enzimas desaturadas. Además de las variaciones en el contenido graso, las diferencias genéticas también pueden dar lugar a diferencias en el color de la carne. Así, en animales de la misma edad, la carne obtenida de razas precoces presenta un color más intenso, debido a que contiene una mayor cantidad de pigmentos, que la obtenida de aquellas razas de madurez tardía (Boocard y Bordes, 1986).

Algunos autores (Sañudo y col., 2000), han indicado que entre las razas españolas, la Parda Alpina muestra valores superiores de contenido graso y menores de proteínas respecto de la raza Asturiana de los Valles, quedando las razas de crecimiento rápido (Pirenaica y Rubia Gallega) en una situación intermedia. Además, las razas rústicas como la Retinta y las de doble aptitud como la Parda Alpina son las que presentan un color más intenso. Entre las razas más utilizadas en la elaboración de Cecina de León destacan la Rubia Gallega (43,5%), la Parda Alpina (37,5%), y la Frisona (16%) (García-Herrero, 1994).

En cuanto al sexo, los machos castrados y las hembras son los animales que presentan una carne con un mayor porcentaje de grasa infiltrada (Vieira, 2003), lo que determina que tras la elaboración se obtenga un producto más jugoso y menos duro.

5.2. EDAD-PESO

A medida que los animales crecen, en el tejido muscular disminuye la concentración de agua y aumenta la cantidad de proteínas y cenizas, hasta que se alcanzan valores relativamente constantes para cada especie. Asimismo, la composición de los distintos depósitos grasos varía conforme avanza la edad, presentando los animales más jóvenes, un tejido adiposo más rico en agua y proteínas y más pobre en grasa que los animales adultos (Vieira, 2003).

Debido a estos cambios en la composición de los diferentes tejidos, la edad va a influir sobre la ternura de la carne, sobre el aumento del contenido de pigmentos y sobre el aumento de la concentración de algunos aminoácidos como valina,

Revisión bibliográfica

metionina, leucina e isoleucina (Asenjo-Martín, 1999). Todos estos cambios influirán en las características del producto final.

La concentración de mioglobina aumenta con la edad. Desde el nacimiento hasta el segundo año de vida, en los tejidos se observa un incremento de la concentración de mioglobina, aunque la magnitud de este aumento depende de la raza del animal y del tipo de músculo (Rennerre, 1982; Lawrie, 1985; Yong-Soo, 1995). Según Lawrie (1985) y Rennerre (1990), los cambios de coloración que tienen lugar durante el crecimiento y hasta la madurez, están asociados a cambios metabólicos, pasando el músculo de un metabolismo predominantemente anaerobio, propio de las fibras blancas o rápidas, a un metabolismo aerobio, característico de las fibras rojas o lentas.

Aunque el color de la carne se intensifica con la edad, debido a un aumento en la concentración de pigmentos hemínicos (Powell, 1991; Martín y col., 1998), es necesario tener en cuenta que, en general, la cantidad de grasa intramuscular se ve incrementada conforme avanza la edad del animal, lo que podría compensar debido a una dilución óptica el efecto de la mayor concentración de estos pigmentos (Vieira, 2003).

Por otro lado, la edad de los animales afecta a la actividad de las enzimas proteolíticas (Sárraga y col., 1993), así animales de una mayor edad poseen un menor potencial proteolítico, por lo que son más adecuados para la elaboración de un producto curado, ya que la materia prima con un exceso de actividad proteolítica da lugar a productos con una textura blanda y pastosa (Virgili y col., 1995).

Concretamente, para la elaboración de Cecina de León, se considera más adecuada la utilización de piezas procedentes de animales viejos, ya que éstos presentan más grasa por lo que el producto final será más jugoso (Martín-Bejarano, 1992) y menor potencial proteolítico lo que permite obtener una textura más adecuada en procesos de larga curación.

5.3. TIPO DE MÚSCULOS

Numerosos estudios han puesto de manifiesto el efecto del tipo de músculo en las características de la carne y, en definitiva, en la calidad de los productos obtenidos a partir de la misma. Así, la diferente localización anatómica de los

músculos hace que el contenido y tipo de grasa sea diferente, por lo que se podría suponer que existen diferencias en la concentración de compuestos responsables del olor y sabor (López-Bote, 1992). Por otro lado, el tipo de músculo es una de las variables que más influye en el color (Shackelford y col., 1992), ya que cada músculo posee diferentes características, como propiedades específicas del metabolismo, contenido de pigmentos, microestructura del tejido, etc. (Portela y col., 2005).

5.4. pH

El pH es uno de los parámetros más importantes a la hora de determinar la calidad tecnológica de la materia prima. En general, tras el desarrollo del *rigor mortis*, el pH de la carne oscila entre 5,4-6,2, 24 horas después del sacrificio. Con estos valores, la carne presenta una buena capacidad de retención de agua, una buena capacidad emulsificante, un color homogéneo y una estabilidad microbiológica adecuada (Durand, 2002). Sin embargo, en algunas ocasiones, durante el desarrollo del *rigor mortis*, se produce una evolución anormal del pH, de modo que cuando el $pH_{24} > 6,2$ se obtienen a carnes “oscuras, firmes y secas”, denominadas DFD, y cuando el $pH_{24} < 5,6$ se obtienen carnes “pálidas, blandas y exudativas”, denominadas PSE. Las carnes DFD son más habituales en vacuno que las PSE (Asenjo-Martín, 1999).

Las carnes DFD son más susceptibles al ataque microbiano, tanto de patógenos como de microorganismos de alteración. Estas carnes presentan una mayor capacidad de retención de agua, lo que dificulta la salida del agua al exterior. Este hecho que implica que, en este tipo de carnes, el salado y la deshidratación posterior sean más lentos y las mermas del producto sean menores, pudiéndose producir en el interior del producto zonas con un mayor contenido en humedad y una textura blanda. Por otro lado, este pH alto dificulta la nitrosación y la difusión de la sal, lo que puede dar lugar a defectos de coloración por insuficiente formación de nitrosomioglobina (Arnau y col., 1998).

Las carnes PSE son carnes en las que se ha producido una desnaturalización de las proteínas miofibrilares y sarcoplasmáticas mayor de lo normal (Offer, 1991), por lo que la capacidad de retención de agua disminuye considerablemente y la absorción de la sal y la merma final son mayores. En estas carnes las reacciones del

Revisión bibliográfica

nitrito se producen de forma más rápida, lo que ocasiona una mayor incidencia de halos de nitrificación (Arnau y col., 1998).

Es importante destacar la influencia del pH de la carne en el potencial proteolítico de la misma, de manera que carnes PSE presentan una mayor actividad enzimática de calpaínas y catepsinas, mientras que en carnes DFD esta actividad es menor (Gil y col., 1999). Estudios realizados en jamón curado (Buscailhon y col., 1994; Arnau y col., 1998; Guerrero y col., 1999) indican que la proteólisis es menor a pH alto, debido a que la actividad de las catepsinas es máxima a pH comprendidos entre 4-5,5. Por otro lado, en estos estudios se indica que pH más bajos no sólo favorecen la liberación de las enzimas de los lisosomas, sino que además pueden alterar la estructura de las miofibrillas, de modo que las proteínas sean más accesibles para las enzimas.

5.5. TRATAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA

Cada vez es más frecuente la utilización de materia prima congeladas en la elaboración de salazones cárnicas, ya que esta práctica permite obtener una materia prima homogénea y optimizar el ritmo de trabajo en las industrias. Sin embargo, la utilización de materia prima congelada plantea algunas dudas debido a que no se conoce su comportamiento durante el proceso de curado, ni las modificaciones que se deberían aplicar al proceso tradicional (Flores y col., 2008). Además, hay que tener presente que este proceso puede dar lugar a cambios en la estructura muscular de la materia prima de partida (Chacón, 2004) provocando daños irreversibles como la desnaturalización y la agregación de las proteínas (Heller y col., 1999) dando lugar a modificaciones del proceso de elaboración que pueden afectar a la calidad del producto final (Kemp y col., 1982; Poma, 1987; Motilva y col., 1994; Bañón y col., 1999; Flores y col., 2005; Barat y col., 2006; Bover-Cid y col., 2006).

Cuando la carne se congela, los cristales de hielo formados dentro de la célula muscular producen una ruptura mecánica de la misma. Si la congelación es lenta, se forman grandes cristales de hielo, lo que implica una mayor rotura mecánica de las células. Durante la descongelación, estos cristales se transforman en agua, parte de la cual es reabsorbida por las células y parte se pierde en forma de exudados. Cuando la congelación se realiza de forma rápida se forman un elevado número de

cristales de menor tamaño, tanto intra como extracelularmente, que ocasionan un daño mínimo a la célula muscular y una menor desnaturalización de las proteínas.

Durante el proceso de congelación/descongelación, se produce la rotura de la estructura celular, favoreciendo la penetración de la sal que hace que la difusión del agua hacia el exterior sea más rápida que en el procesado convencional, por lo que el proceso se ve acelerado (Bañón y col., 1999; Gou y Comaposada, 2000). Por otro lado, hay que tener en cuenta que el proceso de congelación/descongelación es capaz de alterar las proteínas musculares ya que la rotura de las estructuras celulares favorece la liberación de sustratos y enzimas (Fennema, 1996), y por tanto la actividad proteolítica, lo que puede dar lugar a modificaciones en las características sensoriales del producto final. Flores y col. (2006) indicaron que en jamón blanco elaborado a partir de materia prima descongelada se producía un aumento en la degradación de las proteínas miofibrilares. De hecho, indicaron que el alto grado de proteólisis podría deberse a la liberación de catepsinas por parte de los lisosomas. Toldrá (1998) indicó que era posible controlar el grado de proteólisis en este tipo de jamón controlando la humedad relativa y la temperatura de los secaderos.

Sin embargo, los resultados obtenidos en un estudio reciente, realizado por la Universidad de Extremadura, la Universidad Politécnica de Valencia y el Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (Flores y col., 2009; Grau y col., 2008), en el que se evaluó el efecto de la utilización de materia prima congelada sobre la calidad del jamón ibérico, difieren de los obtenidos hasta ahora. En este estudio se observó que los jamones elaborados a partir de perniles congelados presentaban un menor contenido en sal que los jamones elaborados a partir de perniles refrigerados. En cuanto al grado de proteólisis, en este estudio, no se observaron diferencias significativas en el contenido de aminoácidos libres entre los jamones frescos y los congelados. Por el contrario, como se ha indicado anteriormente, en jamón blanco se ha observado una mayor proteólisis en jamones congelados que en los frescos, que se traduce en un mayor contenido en aminoácidos libres (Flores y col., 2006), en un aumento de los valores de nitrógeno no proteico (Bañón y col., 1999) y en una mayor formación de cristales de tirosina (Arnau y col., 1994).

Revisión bibliográfica

En lo que respecta a la calidad sensorial también se han encontrado resultados contrapuestos. En algunos estudios realizados en jamón blanco curado (Poma, 1987) se ha observado que la calidad sensorial de este producto mejora al emplear materia prima congelada, mientras en otros (Motilva y col., 1994; Bañón y col., 1999) se concluye que las características sensoriales de este tipo de producto eran similares a las del jamón elaborado a partir de materia prima fresca o refrigerada, resultado también encontrado por Flores y col. (2008) en jamón ibérico.

6. INFLUENCIA DE LA TECNOLOGIA DE ELABORACIÓN DE LA CECINA

6.1. SALAZONADO

6.1.1. Sal

La sal es un ingrediente indispensable para conseguir la estabilidad microbiológica en las salazones cárnicas, ya que no solo es un potente depresor de la actividad de agua, sino que además, aumenta la capacidad de retención de agua de la carne. Por otro lado, la sal contribuye al desarrollo del color, sabor, y aroma característico, ya que tiene una gran influencia en los cambios que se producen en las proteínas y en las enzimas, fundamentalmente proteasas musculares endógenas, y sobre los procesos de lipólisis y autooxidación, durante el proceso de elaboración de la cecina, condicionando las características organolépticas de este producto (Sárraga y col., 1993).

La sal ejerce diversas acciones sobre los microorganismos. Uno de los efectos sobre los microorganismos es consecuencia de la disminución del agua disponible en el producto, y por tanto, de la concentración de sal en el mismo, hecho que favorece la selección de una flora halotolerante. A concentraciones elevadas, la sal atrae osmóticamente el agua, de modo que no puede ser utilizada por los microorganismos, lo que provoca una reducción e incluso interrupción de procesos vitales. Además, a estas concentraciones, la sal puede llegar a penetrar en el líquido intracelular y alterar el metabolismo celular de los microorganismos. La tolerancia de las distintas especies microbianas a la sal varía en un amplio rango de concentración.

Durante el proceso de salazón, el anión cloruro se une a los grupos cargados positivamente de las proteínas, provocando un aumento neto de carga negativa. Como consecuencia, se producen fenómenos de repulsión que hacen que el espacio entre las proteínas sea mayor, aumentando así la capacidad de retención de agua (Hamm, 1960). Además, la sal favorece la solubilización de las proteínas miofibrilares, ya que aumenta la fuerza iónica del medio, favoreciendo el desarrollo de sus propiedades tecnológicas (poder emulsionante, ligante, etc.).

La presencia de cloruro sódico afecta también a las enzimas proteolíticas, de modo que concentraciones elevadas de sal inhiben la actividad de las calpaínas y las catepsinas, enzimas de la carne responsables de la transformación de proteínas a péptidos, dando lugar a pérdidas en la calidad final del producto (Sárraga y col., 1989; Toldrá y col., 1992, Toldrá y Aristoy, 1993; Martín y col., 1998; Toldrá, 1998; Toldrá y Flores, 1998). Numerosos estudios indican que la sal tiene un efecto estabilizador sobre las enzimas, evitando una proteólisis descontrolada que daría lugar a una textura pastosa del producto (Sárraga y col., 1989; Toldrá, 1992; Parolari y col., 1994; Virgili y col., 1995).

Por otro lado, la sal afecta al color de la carne. Los valores de luminosidad (L^*) disminuyen con el incremento de la sal, debido a que la sal altera el efecto osmótico de la superficie de la pieza, modificando el punto isoeléctrico de las proteínas miofibrilares, lo que provoca un aumento de la capacidad de retención de agua y una reducción de la disponibilidad del agua en la superficie, lo que provoca una disminución de la L^* (Fernández-López y col., 1994; Carraspiso y García, 2005). El índice de rojo (a^*) se incrementa al aumentar la concentración de sal, debido bien a que la sal favorece la extracción de las proteínas hacia la superficie de la carne, o bien a que al aumentar la capacidad de retención de agua se reduce el agua en la superficie lo que incrementa la concentración de mioglobina (Fernández-López y col., 1994; Estévez y col., 2003; Carraspiso y García, 2005).

La sal no sólo ejerce en el curado de las carnes efectos beneficiosos, sino que también ocasiona efectos negativos. En este sentido, autores como Shahidi y col. (1988) han puesto de manifiesto la acción oxidante de la sal sobre la grasa en una amplia variedad de productos cárnicos. Dicha acción, se debe probablemente a las impurezas metálicas presentes en la misma o a una acción oxidativa debida a la reactividad del ión cloruro (Ellis y col., 1968).

Revisión bibliográfica

En la mayoría de los productos cárnicos crudos curados, los niveles de sal oscilan entre un 5-10% (Mercie y col., 1989; García y col., 1995; Virgili y col., 1995; Arnau y col., 1997; Ruiz y col., 1998). En el caso de la Cecina de León el contenido en sal varía entre el 8-15% (García-Herrero, 1994, Vega-Rodríguez, 1994; García y col., 1995). En la actualidad se tiende a elaborar productos cárnicos con un bajo contenido de sal debido, principalmente, a que numerosos estudios han puesto de manifiesto la relación entre un consumo excesivo de sal y la incidencia de enfermedades cardiovasculares (Ruusumen y Puolanne, 2005). Sin embargo, los trabajos realizados en este sentido indican que esta reducción no es fácil ya que los productos cárnicos así elaborados presentan problemas tecnológicos, microbiológicos y modificaciones en sus propiedades sensoriales (Arnau, 2007).

6.1.2. Nitratos y nitritos

Los nitratos (E-251, E-252) y los nitritos (E-249, E-250) son, junto con la sal, los principales agentes de curado. El nitrato es usado en la elaboración de productos curados con un tiempo de curación largo, ya que actúa como reservorio de nitrito (Sebranek y Bacus, 2007a). Los nitratos, añadidos como sal sódica o potásica, no poseen ningún efecto sobre el producto, siendo necesario que los microorganismos con actividad nitrato reductasa presentes en el producto lo reduzcan a nitrito. Entre las funciones que desempeña el nitrito cabe destacar su acción bactericida y bacteriostática, así como su contribución al desarrollo del color y flavor del producto final y su efecto antioxidante (Flores y Toldrá, 1993; Sebranek y Bacus, 2007a).

El nitrito juega un papel importante como agente bactericida (Sebranek y Bacus, 2007b; Flores, 1997). Los microorganismos tienen diferente sensibilidad frente al nitrito. Los micrococcos, que reducen el nitrato a nitrito, presentan una elevada tolerancia al nitrito. De igual modo, los enterococos (*Streptococcus faecium* y *faecalis*), todas las especies de lactobacilos y *Staphylococcus aureus* resisten bastante bien las concentraciones de nitrito habituales en los productos cárnicos. Por el contrario, *Pseudomonas* spp., *E. coli* y coliformes, y todas las especies de bacilos se inhiben en mayor o menor grado en presencia de nitrito y sus efectos son potenciados a valores bajos de pH (García-Herrero, 1994). Además, el nitrito contribuye al control de otros microorganismos como *Listeria monocytogenes* (Sebranek y Bacus, 2007b). Se puede concluir por tanto, que el nitrito ejerce una

acción antibacteriana dirigida fundamentalmente a bacterias anaerobias, siendo su acción más importante la inhibición del crecimiento de *Cl. botulinum*, especialmente a pH cercanos a 6,0 (ICMSF, 1983).

Se desconocen los mecanismos exactos por los que los nitritos ejercen su papel inhibitorio (ICMSF, 1983; Roberts y Dainty, 1991; Martínez y col., 2000). Existen varias teorías en relación a los mecanismos responsables de la actividad antimicrobiana de los nitritos frente a *Cl. botulinum* (Ventanas y col., 2004):

- Formación de determinados compuestos a partir del nitrito y otros componentes de la carne, con capacidad para inhibir el crecimiento de *Cl. botulinum*.
- Actuación del nitrito o de otros compuestos intermedios como agentes oxidantes de enzimas intracelulares y ácidos nucleicos.
- Secuestro por parte del nitrito, de hierro y de otros metales esenciales para el metabolismo del *Cl. botulinum*. El hierro juega un papel importante en la actividad antibotulínica, puesto que la adición a la carne de agentes quelantes de hierro como el EDTA, potencia la acción inhibitoria del nitrito, mientras que incrementos en el contenido de hierro producen un descenso en esta actividad inhibitoria (Tompkin y col., 1978).
- Interferencia del nitrito con compuestos de la membrana, limitando el intercambio celular y el transporte de sustratos a través de ésta.

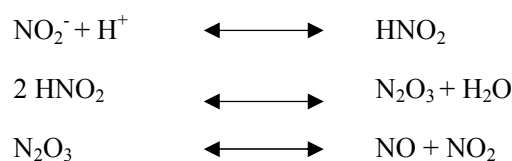
La cantidad de nitrito necesaria para un control efectivo del botulismo depende de cada tipo de producto, siendo el nivel de nitrito residual presente en el producto determinante para impedir el crecimiento del *Cl. Botulinum*. En el caso de productos cárnicos heterogéneos no tratados por el calor es recomendable añadir 125-150 ppm para asegurar el efecto conservador en la totalidad del producto (Toldrá, 2006a).

Por otro lado, es importante indicar que la actividad antimicrobiana del nitrito depende de numerosos factores, de modo que su acción puede sumarse, potenciarse o anularse (Prandl y col., 1994). La actividad antimicrobiana está influenciada por el pH, la concentración de cloruro sódico y la temperatura de almacenamiento, y es más elevada a potenciales de óxido-reducción bajos. De hecho, la eficacia del nitrito frente al *Cl. Botulinum* aumenta conforme disminuye el pH pero, por el

Revisión bibliográfica

contrario, la presencia de hierro disminuye su eficacia. La adición de ascorbato favorece la reducción de nitrito a óxido nítrico y, por tanto, reduce la cantidad residual de nitrito en el producto (Toldrá, 2006a).

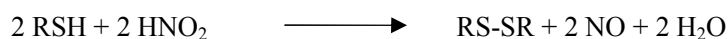
Aparte de la acción inhibitoria del nitrito, cabe destacar la influencia de los nitritos en el color. Numerosos autores han abordado la correlación entre la adición de nitrito y el color típico de la carne curada (Morita y col., 1996; Møller y col., 2003; Møller y col., 2007; Gøtterup y col., 2007). La formación del color es un proceso complejo en el que intervienen sustancias de diversa naturaleza, alguna de ellas derivan directamente de la acción de los microorganismos presentes de forma natural en la carne o añadidos como cultivos iniciadores (Ordóñez y col., 2001). La química del nitrito implicada en el desarrollo del color es complicada, ya que el nitrito no actúa directamente sobre las características de la carne, sino que primero se transforma en varios intermediarios, que darán lugar a óxido nítrico (NO) que es el responsable del desarrollo del color (Hönikel, 2004). Uno de los intermediarios formados es el trióxido de dinitrógeno (N₂O₃) que se transforma en NO según las siguientes reacciones (Sebranek y Bacus, 2007a):



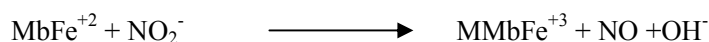
Otra vía de formación del NO es a partir de la reducción del N₂O₃ con ascorbato:

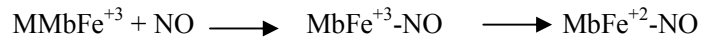


Por otro lado, el nitrito también puede reaccionar con los grupos sulfhídricos de las proteínas y liberar NO a través de una reacción de oxidación-reducción (Sebranek y Bacus, 2007a):



Finalmente, el NO formado reaccionará con el hierro de la mioglobina y de la metamioglobina para formar los pigmentos responsables del color rojo característico de los productos cárnicos crudos curados (Cassens y col., 1979; Adamsen y col., 2006; Sebranek y Bacus, 2007a).





Es preciso indicar que la presencia de sal influye también en la formación del color de los productos curados, ya que la sal reacciona con el ácido nitroso (HNO_2), presente también en la carne, dando lugar a un compuesto intermediario, el nitrosil clorhídrico (NOCl), que es más reactivo que el N_2O_3 y va acelerar el desarrollo del color (Sebranek y Bacus, 2007a):



La cantidad teórica necesaria para convertir en nitrosomioglobina ($\text{MbFe}^{+2}\text{-NO}$) el 50% de la mioglobina presente es de 20 ppm de nitrito y la cantidad mínima de nitrito necesaria para producir un color adecuado en la carne y en los productos cárnicos se estima en unos 40-50 ppm (Sebranek y Bacus, 2007b).

El nitrito es también responsable del desarrollo del flavor característico de los productos curados aunque los mecanismos que dan lugar a dicho efecto son los menos conocidos de la química del nitrito (Pegg y Shahidi, 2000). El efecto del nitrito en la formación del sabor y olor fue estudiado por primera vez por Brook y col. (1940), que establecieron diferencias de sabor asociadas al uso de este compuesto. Numerosos estudios han intentado demostrar la relación entre el aroma típico de carne curada y la concentración de nitrito añadida a la carne, indicando que el aroma de la carne curada podría ser debido a la reacción del nitrito con determinados componentes del músculo o a la acción desaminante que ejerce el HNO_2 sobre los aminoácidos (Durand, 2002). Anteriormente, otros autores defendieron que el aroma específico del curado se origina, en realidad, por reacciones del nitrito con las proteínas cárnicas hidrosolubles y con los componentes dializables de la carne (Wassermann y col., 1972). La mayoría de los autores que han estudiado la influencia del nitrito sobre el sabor han tratado de identificar el/los compuesto/s responsables, sin embargo, aún se desconoce que sustancias son las que producen específicamente el aroma a curado (Mottram y col., 1984; Martín y col., 2001). Las investigaciones para identificar el verdadero aroma a curado, se ven dificultadas por el hecho de que numerosos componentes del músculo reaccionan con el nitrito, desconociéndose si los productos de estas reacciones influyen o no sobre el aroma a curado. No obstante, se sabe que la cantidad de nitritos necesaria para producir el aroma a curado típico es 20-40 ppm (Sebranek y Bacus, 2007b).

Revisión bibliográfica

Numerosos autores (Cammack y col., 1999; Kirsch y Fischer, 2004; Sebranek y Bacus, 2007a) han indicado que el efecto del nitrito sobre el flavor está relacionado con el efecto que ejerce al prevenir la oxidación lipídica. Actualmente, se admite el efecto protector del nitrito en el proceso de enranciamiento y, se sabe que, entre todos los antioxidantes empleados en carnes, el nitrito posee un elevado efecto contra el desarrollo de la rancidez oxidativa (Greence y Price, 1975). La oxidación de los lípidos de la carne está catalizada por sistemas enzimáticos, así como por el hierro no hemo y el hierro contenido en los pigmentos cárnicos, adoptando el nitrito un papel inhibitor de este fenómeno (Ordóñez y col., 1999). El mecanismo de acción de este efecto protector aún no es bien conocido. Tarladgis (1961) sugirió que el efecto del nitrito sobre el enranciamiento se debe probablemente a la misma reacción que es responsable del desarrollo del color. Otros autores han indicado la posibilidad de que el nitrito estabilice la membrana lipídica e inhiba la acción de compuestos pro-oxidantes presentes en la carne (Pearson y col., 1977). En la actualidad, se admite que el poder antioxidante del nitrito está relacionado con su capacidad de bloquear los iones hierro de los hemopigmentos ya que éstos son catalizadores activos de la oxidación lipídica. La reacción de los pigmentos con el nitrito retiene el hierro en el hemo, a menudo en su forma reducida (Fe^{++}), lo que hace que no pueda actuar como catalizador (Santos y col., 2004; Sebranek y Bacus, 2007b). Por otro lado, Hönikel (2008) apuntó la posibilidad de que el nitrito añadido a la carne reaccione con el oxígeno del aire actuando así como antioxidante.

Finalmente, es importante indicar que, a pesar de los efectos beneficiosos de la adición de nitritos, la preocupación por el riesgo de formación de N-nitrosaminas ha llevado a la reducción de los niveles de estos aditivos (Siu y Henshall, 1998., Zarringhalami y col., 2008). Las nitrosaminas son aminas con dos grupos orgánicos y un grupo NO unido al nitrógeno central, que pueden formarse a partir de la reacción del nitrito con aminas secundarias. Si se tiene en cuenta que el pH óptimo para la formación de nitrosaminas es de aproximadamente 3 y que las cantidades de nitrito que se añaden en los productos cárnicos son muy reducidas (como máximo 150 ppm), no es de esperar que en la práctica se formen nitrosaminas. Sin embargo, en algunas ocasiones se ha comprobado su existencia en cantidades cercanas a los límites de detección. Además, existe el problema de que cuando se ingieren con los alimentos nitritos y aminas secundarias, la acidez del jugo gástrico

puede hacer posible esta reacción (Hönikel, 2008). Por ello, se intenta que el contenido residual de nitrito en los productos cárnicos sea el menor posible, estableciéndose límites desde el punto de vista legal.

Recientemente, como se ha descrito anteriormente, se ha actualizado la legislación vigente sobre aditivos alimentarios, de acuerdo con los nuevos conocimientos científicos y teniendo en cuenta los dictámenes científicos de la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2003) y del Comité Científico de la Alimentación Humana. Así, en el RD 1118/2007 (BOE, 2007) se establece como norma general que las cantidades máximas de nitritos y nitratos que pueden añadirse en los productos cárnicos son de 150 ppm, lo que supone una reducción en las cantidades de nitratos añadidos respecto a la legislación anterior.

6.1.3. Proceso de salazonado

El salazonado puede explicarse como un proceso de dos fases, en el que inicialmente la sal se disuelve en la capa superficial de las piezas, formándose una salmuera saturada a partir de la cual, en una segunda fase, se produce la difusión de iones cloruro hacia el interior de la carne (Sørheim y Gumpen, 1986). La penetración salina es simultánea a la pérdida de humedad, de manera que la sal penetra en la masa muscular por fenómenos de difusión, capilaridad y ósmosis, que conllevan un transporte de líquido hacia el exterior y modificaciones en las proteínas y los enzimas. La mayoría de los estudios en jamón muestran que el movimiento de la sal hacia el interior se ajusta a modelos de movimiento difusivo, habiéndose determinado de forma experimental el coeficiente de difusión de la sal en valores que oscilan entre $0,12-0,63 \times 10^{-9}$ m/s (Andujar y Tarrazo, 1981; Gou y Comaposada, 2000).

Los factores que determinan la difusión de la sal hacia el interior y, por tanto, de la difusión del agua hacia el exterior son tanto parámetros extrínsecos (la congelación/descongelación, el tipo de sal, el tiempo de contacto de la misma con la pieza, la temperatura y la humedad relativa previa de las piezas) como intrínsecos (la dirección de las fibras musculares, el contenido de grasa y el pH).

Cuando la materia prima se somete a un proceso de congelación/descongelación, debido a los daños que los cristales de hielo producen en las membranas celulares, se favorece la penetración de la sal y de los agentes de curado lo que implica una aceleración de la difusión de la sal en la carne

Revisión bibliográfica

descongelada y una mayor exudación de líquido, disminuyendo, el tiempo de salado de las piezas (Poma, 1987; Gelabert y col., 1998; Ventanas y col., 1998; Bañón y col., 1999; Novalbos, 2000). Flores y col. (2008) indicaron la importancia de optimizar el tiempo de salado cuando se utiliza materia prima congelada en la elaboración de jamones para asegurar un nivel de sal adecuado y evitar la aparición de problemas. En cuanto al tipo de sal utilizada en la elaboración de las salazones cárnicas, conviene usar siempre sal marina de grano grueso, ya que a diferencia de los embutidos cárnicos, en los que la sal y los agentes de curado se distribuyen homogéneamente durante el amasado, en los productos elaborados a partir de piezas enteras de carne, como es el caso de la cecina de vacuno, la sal debe penetrar hacia el interior de la pieza por difusión. Un salado con sal fina, aunque conllevaría una disminución en el tiempo de salado de las piezas, provocaría una presión osmótica elevada en las fibras musculares, y por tanto, una pérdida de una gran cantidad de exudado rico en proteínas. En relación a la temperatura del proceso de salazonado, la penetración salina se acelera a medida que la temperatura aumenta, pero esto implica un mayor riesgo de crecimiento microbiano, por lo que generalmente, se recomienda utilizar temperaturas comprendidas entre 1-3 °C, que inhiben en gran medida el desarrollo microbiano y permiten una rápida difusión salina.

En la carne, la mayor parte del agua se encuentra retenida por fenómenos de capilaridad entre los miofilamentos de las fibras musculares, por lo que, cuando la sal penetra en la masa muscular por difusión, ésta será más rápida cuando tenga lugar en la misma dirección de las fibras musculares y menor cuando se realice en sentido perpendicular (Thorvaldsson y Skjoldebrand, 1996). También la difusión de la sal hacia el interior de la pieza se verá limitada en función del contenido en grasa, de manera que un elevado contenido en grasa frena la penetración de sal (Wood, 1996). Finalmente, el pH de la carne es un factor importante en el curado de piezas enteras. Un pH elevado (> 6), además de ocasionar una penetración salina lenta, facilita el crecimiento microbiano, reduciendo la estabilidad de la pieza. Por el contrario, un pH inferior a 5,4-5,6 da lugar a una adecuada penetración salina.

6.2. AHUMADO

El proceso de ahumado tiene como finalidad favorecer la conservación del alimento y modificar de forma agradable cualidades sensoriales como el aroma, el sabor, el color y la textura. La acción conservante del humo es debida, tanto a sus efectos bacteriostáticos como antioxidantes. Numerosos compuestos del humo, entre ellos el formaldehído y sobre todo los compuestos fenólicos, poseen una acción bactericida o bacteriostática (Girard, 1991; Martínez y col., 2004; Pittia, y col., 2005). Además, determinados compuestos fenólicos del humo ejercen un efecto antioxidante sobre los lípidos.

Aparte de la acción conservante, la influencia en el sabor y en el color son los principales efectos beneficiosos del humo que el fabricante persigue con el ahumado de sus productos. El mecanismo por el cual se desarrolla el sabor a ahumado no es del todo conocido, pero la mayoría de los autores (Girard, 1991; Martínez y col., 2004) coinciden en que está determinado por compuestos precursores de aromas presentes en el humo y en que los propios aromas son el resultado de reacciones entre estos precursores y componentes proteicos del producto (Durand, 2002). A pesar del elevado número de estudios realizados sobre la composición del humo, resulta difícil identificar los componentes químicos responsables del flavor típico de los productos ahumados. No obstante, según numerosos autores, algunos compuestos fenólicos como el guayacol, el 4 metil guayacol, y el siringol son considerados determinantes para la obtención de este flavor (Girard, 1991; Durand, 2002). Sin embargo, estos compuestos no son los únicos componentes del humo implicados, ya que la presencia de otros tipos de compuestos como carbonilos, lactonas, furanos y derivados furánicos, modifican el sabor original conferido por los fenoles (Hollenbeck, 1994).

La coloración típica de los productos ahumados es el resultado de la interacción entre compuestos carbonilos del humo y los grupos aminos de las proteínas de la carne a través de mecanismos similares a la reacción de Maillard. En relación a la textura de los productos cárnicos, algunos componentes del humo de la familia de los aldehídos la modifican por coagulación de las proteínas miofibrilares de la carne (Girard, 1991) mientras que otros componentes pueden reaccionar con las proteínas dando lugar a una textura más firme (Martínez y col., 2004).

Revisión bibliográfica

Por último, además de los efectos beneficiosos del ahumado en los productos cárnicos, también se originan en esta etapa algunos compuestos fenólicos indeseables, pero su penetración hacia el interior de los productos cárnicos es muy baja, por lo que no implican ningún riesgo para la salud humana (Jira, 2004).

6.3. SECADO-MADURACIÓN

Como ya se ha indicado con anterioridad, la duración de la fase de secado-maduración así como las condiciones de curado a las que son sometidas las piezas son importantes en la calidad del producto final.

Aunque no se ha determinado el ritmo de pérdidas de humedad durante el periodo de maduración de la Cecina de León, el tiempo de maduración al que es sometido este producto y la merma final alcanzada, ponen de manifiesto que la desecación que se produce es similar a la observada en otros productos curados como el jamón (Gutiérrez y col., 1988).

El ascenso de temperatura que se produce durante el secado-maduración de los productos cárnicos potencia la deshidratación y la difusión salina, y favorece el desarrollo de procesos microbiológicos, químicos y bioquímicos que proporcionan el color, sabor y aroma característico de este producto. En esta etapa, en la superficie de las piezas comienzan a proliferar distintos tipos de mohos y levaduras (*Penicillium* y *Aspergillus*), que además de regular la pérdida de humedad, contribuyen al desarrollo de las características sensoriales del producto (Antequera y Martín, 2001).

Además, con el proceso de secado-maduración se producen modificaciones de la fracción proteica, entre las que destacan los fenómenos de desnaturalización y de agregación proteica, los procesos de proteólisis y las modificaciones en la fracción lipídica que son fundamentales en el desarrollo de las características sensoriales del producto final.

Las proteínas solubles, en mayor medida las proteínas miofibrilares (solubles en soluciones salinas de fuerza molar alta) y las sarcoplasmáticas (solubles en soluciones salinas diluidas) durante la maduración, experimentan un proceso de desnaturalización que supone un descenso en la cantidad de proteínas solubilizadas, lo que afecta a la textura final de la cecina (García y col., 1997). Por otro lado, durante esta etapa el descenso del contenido acuoso da lugar a una mayor

concentración de sal en la pieza lo que origina una disminución del diámetro transversal de las miofibrillas y hace que se formen pequeños agregados (Toldrá y col., 1993; Córdoba y col., 1994a). Además, el descenso del contenido acuoso da lugar a una disminución de las interacciones proteína-agua y a un aumento de las interacciones proteína-proteína, lo que dificulta la solubilización proteica y disminuye la capacidad de retención de agua. Por último, el menor contenido acuoso en la pieza unido al aumento de la concentración de solutos, principalmente sales y compuestos procedentes de la proteólisis, hace que la a_w continúe disminuyendo (Antequera y Martín, 2001).

La proteólisis, que afecta fundamentalmente a las proteínas miofibrilares, es un proceso de naturaleza enzimática donde están implicadas enzimas que proceden de la carne, fundamentalmente proteasas musculares endógenas (calpaínas, catepsinas y proteasoma) (Córdoba y col., 1994b) y/o enzimas de origen microbiano procedentes de microorganismos presentes en la superficie del producto, como son las micrococáceas o la flora fúngica (García y col., 1995). Como consecuencia de esta actividad enzimática se generan péptidos, aminoácidos libres, siendo mayoritarios en la cecina, la mezcla de leucina-isoleucina, lisina y la mezcla de prolina-metionina (García y col., 1997).

Por último, la lipólisis es un proceso de naturaleza enzimática, de carácter hidrolítico, que conduce a la liberación de ácidos grasos. Estos ácidos grasos liberados van a servir de sustrato para la sucesión de reacciones oxidativas que, en último lugar, darán origen a una serie de compuestos aromáticos de gran importancia para el desarrollo de flavor característico de los productos curados (Antequera y Martín, 2001).

6.3.1. Evolución de los parámetros físico-químicos

6.3.1.1. Humedad

Desde el momento en que la carne de partida se pone en contacto con la sal se produce un fenómeno paralelo de difusión de la sal hacia el interior de la pieza y de salida del agua de constitución del músculo hacia el exterior, hasta alcanzar un equilibrio. En el caso de la Cecina de León, los estudios realizados por García y col. (1995) indican que el contenido de humedad disminuye desde un 74% en carne fresca, hasta valores de un 52% tras 153 días de elaboración. En producto acabado,

Revisión bibliográfica

otros autores (Gutierrez y col., 1988) han encontrado valores similares de humedad.

La tasa de secado en los productos cárnicos crudo-curados depende de la transferencia de masa desde el interior del producto hacia la superficie y desde la superficie del mismo hacia el exterior. La transferencia externa depende a su vez de la humedad relativa, la temperatura, la velocidad del aire, la presión y de las propiedades de la superficie de la pieza, mientras que la transferencia interna depende de las propiedades intrínsecas del producto como el pH, la dirección de las fibras musculares, el contenido graso y el contenido de agua (Ruiz-Ramírez y col., 2005). En el caso de la Cecina de León, los estudios realizados por García y col. (1997) pusieron de manifiesto la influencia de las características de la materia prima de partida en el proceso de secado. Estos autores obtuvieron una mayor disminución del contenido acuoso en el músculo *Rectus femoris* (babilla) que en el músculo *Semimembranosus* (contra), tras 153 días de procesado.

En la etapa de salado, aunque la temperatura es baja y la humedad relativa alta, se registran pérdidas debido a la acción higroscópica de la sal. Estas pérdidas continúan en el postsolado, en la etapa de ahumado y al principio del secado ya que, debido al aumento de la temperatura, se produce una elevada pérdida del agua no retenida situada más superficialmente. En las etapas posteriores, las condiciones termohigrométricas se suavizan, lo que unido a la mayor sequedad de la superficie del producto, hace que las pérdidas de humedad descendan.

6.3.1.2. Actividad de agua (a_w)

La a_w desciende progresivamente en las salazones cárnicas por dos motivos: (1) por la absorción de sales de curado durante el salado y (2) por la pérdida de agua debida a la evaporación durante el secado. La a_w es el parámetro físico-químico más importante desde el punto de vista de la seguridad y de la estabilidad microbiológica del producto, ya que indica el agua disponible para los microorganismos. La evolución de la a_w en cecina ha sido estudiada por García y col. (1995) que indicaron una disminución desde valores de 0,982 tras el salado hasta valores próximos a 0,896 en producto curado.

Los niveles óptimos de crecimiento microbiano se sitúan en torno a 0,995 y 0,980 (James y James, 2002). Durante el tiempo de salado, la sal incorporada a los

músculos superficiales hace que la a_w disminuya rápidamente, pero no todos los microorganismos son inhibidos, así, los mohos y las levaduras pueden crecer en la superficie a valores de a_w inferiores a 0,85 (Martín-Bejarano, 1992).

6.3.1.3. pH

Algunos autores (Arnau y col., 1995; Ordóñez, 2001; Sánchez-Molinero, 2003; Cilla, 2005) han indicado que, en salazones cárnicas, la tendencia general del pH, tanto en superficie como en profundidad, es a aumentar ligeramente durante el proceso, oscilando normalmente su valor entre 5,6 y 6,2 con diferencias entre los distintos músculos.

En el caso de la Cecina de León, la evolución del pH a lo largo del proceso madurativo ha sido estudiada por García y col. (1995), que indican que la variación de este parámetro es mínima, oscilando entre 5,5-5,9. Resultados similares han sido observados por Rubio (2006) en Cecina de León con 11 meses de curado.

6.3.2. Cambios en la fracción proteica

Durante el proceso de maduración de los productos cárnicos, tienen lugar importantes cambios bioquímicos sobre la fracción proteica que repercuten en la calidad del producto final (Antequera y Martín, 2001). Entre estas transformaciones, destacan tanto las modificaciones que tienen lugar sobre la estructura de las proteínas musculares (dando lugar a una pérdida de su solubilidad y a la formación de agregados), así como el aumento de las fracciones nitrogenadas de bajo peso molecular.

6.3.2.1. Proteolisis

Entre las transformaciones que se producen en las proteínas a lo largo del proceso de elaboración se encuentra la proteolisis, que es un proceso de naturaleza enzimática, responsable, en gran parte, de la calidad final de los productos cárnicos (Toldrá, 2006a). Así, la proteolisis influye directamente sobre la textura y el sabor e indirectamente sobre el desarrollo del aroma de los productos cárnicos curados (Toldrá y Flores, 1998).

En primer lugar, en la proteolisis se produce la degradación de las proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas por la acción de endopeptidasas o proteinasas, como

Revisión bibliográfica

las calpaínas y las catepsinas, que actúan fundamentalmente sobre la miosina y la troponina, dando lugar a fragmentos proteicos de menor peso molecular (Figura 9).

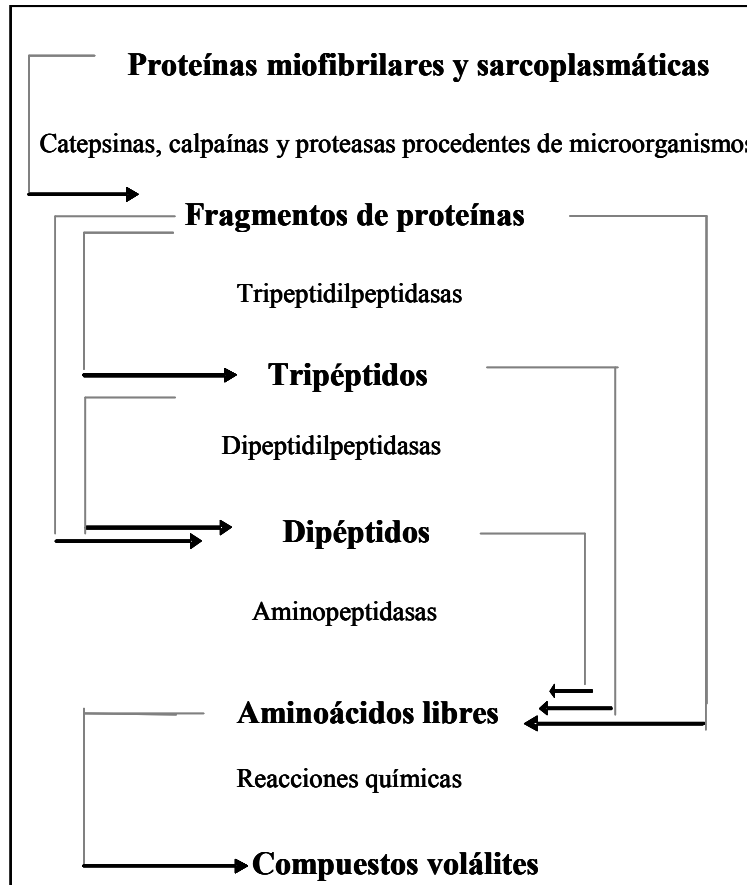


Figura 9. Esquema general de la proteólisis en productos cárnicos curados. Fuente: Toldrá, 2006a.

Es preciso indicar, que la actividad de las calpaínas desaparece en las primeras semanas del proceso de elaboración, por lo que, son las catepsinas las que actúan mayoritariamente (Antequera y Martín, 2001). Los fragmentos proteicos obtenidos tras la acción de las catepsinas, son degradados por las tri y dipeptidilpeptidasas (exopeptidasas) que intervienen en la generación de pequeños tri y dipéptidos que,

son hidrolizados nuevamente por las aminopeptidasas y las carbopeptidasas, lo que da lugar a un incremento en el contenido de aminoácidos libres (Toldrá, 1992).

En la elaboración de las salazones cárnicas, la proteólisis es más intensa en las primeras fases del proceso, durante el salado y post-salado, a baja temperatura, cuando la humedad es mayor y la sal no ha penetrado aún en el interior (Ordóñez, 2001). Posteriormente, la acción de las altas temperaturas facilita también la acción de las catepsinas y, por tanto, de los procesos de proteólisis (Arnau y col., 1997).

Los principales factores que van a determinar la acción de los enzimas son factores extrínsecos como el grado de secado, la temperatura, la cantidad de sal del músculo y el pH (Toldrá, 1998). Por un lado, el descenso de la a_w que se produce durante el secado provoca una disminución de la actividad de las catepsinas, especialmente cuando baja de 0,84 (Toldrá, 1992, Virgili y col. 1995). Otro factor que influye sobre la actividad enzimática es la temperatura. La temperatura óptima de actividad de la catepsina B es de 30 °C y para las catepsinas H y L es de 37 °C (Sánchez-Molinero, 2003), por lo que un aumento de la temperatura a lo largo del proceso de elaboración produce un aumento de la proteólisis, debido a que se produce un aumento de la actividad de los enzimas proteolíticos. Respecto a la influencia de la sal sobre las catepsinas, por un lado, tiene un efecto estabilizador sobre la actividad enzimática, pero por otro, inhibe la acción de los enzimas como se ha comprobado en estudios *in vitro* (Sárraga y col., 1989; Rico y col., 1991). En general, cuando la concentración de sal es baja los enzimas pueden actuar y la proteólisis parece estar favorecida, pero durante las etapas del curado posteriores, debido al aumento de la concentración de sal y por efecto del secado, la actividad proteolítica va disminuyendo (Antequera y Martín, 2001).

En estudios realizados en Cecina de León, García y col. (1997) indicaron que a lo largo del proceso de elaboración de este producto se produce una intensa proteólisis en las etapas iniciales del proceso de elaboración. Como resultado de esta actividad enzimática se produce la degradación tanto de la cadena pesada como de la ligera de la miosina y de la troponina C, lo que da lugar a la aparición de tres componentes con pesos moleculares de 75KDa, 70KDa y 65KDa. Además, se produce una disminución de la solubilidad y de la extractabilidad de las proteínas como resultado de la acción conjunta de la sal, el pH y la deshidratación a lo largo del proceso de curado.

Revisión bibliográfica

6.3.2.2. Fenómenos de desnaturalización y agregación proteica

Aparte de los fenómenos de proteolisis anteriormente mencionados, durante el proceso de elaboración de los productos cárnicos curados, se producen fenómenos de desnaturalización y agregación proteica que dan lugar a un descenso en la cantidad de las proteínas solubilizadas (Zumalacárregui, 1997; Antequera y Martín, 2001). La pérdida de solubilidad puede influir también en los procesos proteolíticos, bien activándolos, inhibiéndolos, o modificando alguna de las propiedades funcionales de las proteínas, como la capacidad de retención de agua, que disminuye por lo que se favorece la deshidratación del producto (Ordoñez, 2001). Además, cualquier factor que altere la solubilidad de las proteínas va a afectar a la textura final del producto (Córdoba, 1990).

Al igual que sucede con los fenómenos de proteolisis, la desnaturalización proteica va a estar desencadenada, así como controlada, por las condiciones del proceso de elaboración, principalmente por la concentración de sal (Antequera y Martín, 2001). En la elaboración de salazones cárnicas, a medida que la sal va penetrando en la masa muscular y se va perdiendo parte del agua de constitución de la misma, se produce un proceso de desnaturalización de las proteínas sarcoplasmáticas y miofibrilares, que se favorece por el incremento de la temperatura (Cilla, 2005).

Según estudios realizados en jamón curado (Ordoñez, 2001), la desnaturalización en las primeras fases del proceso de elaboración afecta sobre todo a las proteínas sarcoplasmáticas, mientras que a medida que aumenta la temperatura estos procesos afectan más a la fracción miofibrilar (Larrea y col., 2006).

6.3.2.3. Evolución del nitrógeno no proteico

Los procesos de proteolisis y de desnaturalización proteica que se producen a lo largo de la maduración de los productos cárnicos curados, dan lugar a un incremento en la concentración del nitrógeno no proteico (NNP). El NNP incluye péptidos de diferentes tamaños, aminoácidos y compuestos de degradación de éstos, por lo que la medida del NNP se ha utilizado para establecer el grado de proteolisis que se produce a lo largo de la maduración.

Los cambios en la concentración del NNP durante el curado, evolucionan de forma paralela a la temperatura, siendo más intensa la proteólisis y la formación del NNP durante las fases en las que se alcanza una mayor temperatura. Pero hay que tener en cuenta, que el progresivo aumento de la temperatura tiene dos efectos contrapuestos: por un lado, origina un aumento de la actividad enzimática al aproximarse a la temperatura óptima de los enzimas, pero por otro, provoca una desecación, que va inhibiendo la acción enzimática (Sánchez-Moliner, 2003). En general, en las primeras etapas de curado de los productos cárnicos, se generan tanto péptidos como aminoácidos libres, probablemente debido al equilibrio que se establece entre la formación de fragmentos de alto peso molecular y las reacciones hidrolíticas que dan aminoácidos, estando ello favorecido por las condiciones iniciales del proceso (bajo contenido de sal junto con una alta humedad).

En el caso de la cecina, los cambios producidos en las fracciones nitrogenadas durante el proceso de maduración han sido estudiados por García y col. (1997), en cecinas elaboradas a partir de babilla y contra. Estos autores indican que el NNP aumenta a lo largo del proceso de elaboración, principalmente en las etapas de ahumado y secado, alcanzando un incremento de 2,74 veces en el caso de la cecina elaborada a partir de contra y de 2,34 veces en la cecina elaborada a partir de babilla.

6.3.2.4. Evolución del nitrógeno peptídico

Al inicio de la fase de curado, el nitrógeno peptídico (NP) representa la mayor fracción del NNP. Posteriormente, durante la fase de secado, el NP sigue aumentando aunque de forma menos importante, debido probablemente a que el aumento de la temperatura y la desecación progresiva favorecen más la hidrólisis de péptidos hacia aminoácidos libres, por acción de las aminopeptidasas tisulares, que la propia generación de péptidos (Antequera y Martín, 2001). En las últimas etapas del proceso de curado, la cantidad de NP o no varía significativamente o disminuye. Esto podría ser debido a que la liberación de péptidos ha quedado inhibida por la inactivación de determinadas proteasas, y la proteólisis se dirige hacia la formación de otros compuestos de menor tamaño, especialmente aminoácidos. Esta reducción de la fracción de NP global se puede deber a un mayor contenido de sal, por lo que la actividad enzimática se ve reducida (Rico y col., 1991).

Revisión bibliográfica

La evolución del contenido de NP a lo largo del proceso de curado de la cecina elaborada a partir de babilla y contra ha sido descrita por García y col. (1997). En este estudio, el contenido de NP al inicio del proceso de maduración de la cecina representa el 68% de la fracción del NNP en la contra y un 65% en la babilla. Posteriormente, la concentración de NP se mantiene prácticamente constante hasta la etapa de secado, para disminuir al final del proceso (157 días) hasta un 27% del total del NNP para la contra y un 17% para la babilla.

6.3.2.5. Evolución del nitrógeno aminoacídico

El seguimiento de la evolución de los aminoácidos libres (NA) ha sido objeto de numerosos estudios, especialmente en jamón, debido al papel que juegan éstos como precursores de componentes del aroma. La formación de aminoácidos está muy influida tanto por la sal como por la temperatura (Toldrá, 2006a). De hecho, se ha observado que el incremento de la temperatura y la desecación progresiva favorecen la generación de aminoácidos que pueden llegar a sustituir a los péptidos como principal fracción dentro del NNP (Toldrá, 2006b).

García y col. (1997) indicaron que el NA, en la Cecina de León, es la fracción más abundante del NNP, representando un 45-50% del total del NNP. En la materia prima los aminoácidos mayoritarios fueron taurina, alanina y leucina e isoleucina mientras que al final del curado de la cecina fueron prolina, metionina, lisina, isoleucina y leucina, los cuales contribuyen al sabor característico de la cecina. En otras salazones cárnicas, como el jamón curado, tanto en jamón Ibérico como en jamón de cerdo blanco, los aminoácidos mayoritarios en el producto final son ácido glutámico, alanina y lisina (Flores y col., 1997).

6.3.3. Cambios en la fracción lipídica

La fracción lipídica intramuscular está constituida fundamentalmente por triglicéridos (aproximadamente en un 90%) y fosfolípidos (Antequera y Martín, 2001). Durante el proceso de maduración de las salazones cárnicas, sobre la fracción lipídica se producen fenómenos de lipólisis y de oxidación.

6.3.3.1. Lipólisis

Los procesos degradativos de los lípidos comienzan con las reacciones de hidrólisis enzimática, que conducen a la liberación de ácidos grasos de los

triglicéridos y de los fosfolípidos, mediante la acción de enzimas lipolíticas, lipasas y fosfolipasas, de origen tanto tisular como microbiano (Ruiz-Carrascal, 1996). Los procesos lipolíticos que se desarrollan durante la maduración de las salazones cárnicas son más intensos en la etapa de secado y al final de la etapa de maduración, debido al aumento de la temperatura que se produce en dichas etapas (Toldrá, 1998, Toldrá y Flores, 1998).

La concentración de ácidos grasos de los triglicéridos no varía de forma significativa durante el proceso de curado de jamón, por lo que cabe suponer que la fracción de triglicéridos no es la fuente principal de ácidos grasos libres durante la maduración del jamón ibérico (Martín, 1996; Cava, 1997). En cuanto a los ácidos grasos de los fosfolípidos, éstos disminuyen durante el proceso de maduración del jamón ibérico según Martín y col. (1999).

Estudios realizados por Martín y col. (1999) indican que durante el proceso de curado del jamón, se generan ácidos grasos saturados libres (C12, C14, C16 y C18), y el contenido en ácidos grasos monoinsaturados (C16:1 y C18:1) y poliinsaturados (C18:2, C18:3 y C20:4) desciende ligeramente. Esta disminución se atribuye a las reacciones oxidativas que sufren durante el proceso de maduración los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados. Sin embargo, según Antequera y col. (1993), al final de la maduración del jamón ibérico se produce un aumento de los ácidos grasos insaturados (C18:1 y C18:2), posiblemente debido a la presencia de compuestos antioxidantes procedentes de la alimentación del cerdo Ibérico.

En el caso de la Cecina de León no se han encontrado estudios, en la bibliografía consultada, sobre la evolución de los lípidos durante el proceso de curado.

6.3.3.2. Oxidación lipídica

A partir de los ácidos grasos liberados se producen una serie de reacciones oxidativas que darán lugar a compuestos aromáticos (Antequera y Martín, 2001). La oxidación lipídica implica la reacción de los ácidos grasos libres con el oxígeno, para formar peróxidos que son muy reactivos, por lo que rápidamente se transforman en otros productos intermedios y compuestos volátiles. Estos últimos

Revisión bibliográfica

pueden ser importantes en el desarrollo del flavor de productos cárnicos (Ruiz-Carrascal, 1996).

Los ácidos grasos insaturados son los que primero participan en las reacciones de oxidación. De las dos fracciones lipídicas mayoritarias de la carne (fosfolípidos y triglicéridos), los fosfolípidos presentan una mayor proporción de ácidos grasos insaturados lo que hace que sean los principales responsables del inicio de la oxidación lipídica; además, los fosfolípidos están localizados en las membranas próximas a los enzimas y a los catalizadores de estas reacciones de oxidación (Gray y Pearson, 1987).

En cuanto a la oxidación lipídica, se han realizado numerosos estudios en jamón (Motilva y col., 1994; Ruiz-Carrascal, 1996; Monin y col., 1997; Yang y col., 2005) que indican que las reacciones de oxidación son complejas, ya que en su desarrollo influyen diversos factores (Ruiz-Carrascal, 1996). Estas reacciones se ven favorecidas por las elevadas temperaturas en determinadas fases del proceso de elaboración, la baja a_w (Belitz y Grosch, 1988), la concentración de sal (Cheftel y Cheftel, 1976; Pearson y col., 1977) o la presencia de Fe hemínico (Kanner y col., 1991). Por otro lado, la cantidad de nitritos y la cantidad de grasa frenan dichas reacciones (Antequera y Martín, 2001). También, la composición de los lípidos influye en la oxidación lipídica, así los ácidos grasos insaturados se oxidan más rápidamente que los saturados y éstos se oxidan a una velocidad más rápida cuando están en forma libre que cuando están esterificando al glicerol. El número, la posición y la geometría de los dobles enlaces influyen también en la velocidad de reacción. Los enlaces cis se oxidan más que los trans y los dobles enlaces conjugados son más reactivos que los no conjugados (Flores, 1997).

Respecto a la cecina, no se han encontrado estudios sobre las reacciones de oxidación que ocurren durante su proceso de curado.

6.3.4. Evolución de la microbiota

Las características de la materia prima, la sal y la evolución de la temperatura y de la humedad relativa durante el proceso de elaboración de las salazones cárnicas, favorecen el desarrollo mayoritario de los cocos gram + catalasa +, cuya capacidad halotolerante es conocida (Carrascosa y col., 1988). Además, estos microorganismos se encuentran entre los que mejor soportan los procesos de

congelación/descongelación (Batholomew y Blumer, 1997). Dentro de esta familia, el género más frecuente es *Staphylococcus* y en concreto la especie *S. xylosus* (Molina y col., 1989; Cornejo y Carrascosa, 1991; Rodríguez y col., 1994).

García y col. (1995) estudiaron la evolución de la microbiota a lo largo del proceso de elaboración de la Cecina de León, tanto en la superficie como en el interior de la pieza. A lo largo del proceso de elaboración, la evolución de la microbiota fue similar en el interior y en la superficie de la cecina, aunque los recuentos fueron de 2 log mayores en la superficie de la pieza que en el interior de la misma. En la etapa de postsalado se produjo un aumento global de la microbiota halotolerante a pesar de que las condiciones para el crecimiento de los microorganismos fueran desfavorables (baja a_w y baja temperatura). Tras el ahumado, la flora disminuyó ligeramente, debido al efecto antimicrobiano del humo (Girard, 1991; Pittia y col., 2005), para posteriormente, durante el secado, aumentar con la temperatura, descendiendo en las etapas finales del secado. En el producto final, los recuentos mayoritarios fueron de micrococáceas, alcanzando valores de 10^7 ufc/g en la superficie y 10^3 - 10^4 ufc/g en el interior de la cecina, y de bacterias ácido lácticas con valores de 10^5 - 10^6 ufc/g en la superficie y de 10^2 - 10^3 ufc/g en el interior. Las bacterias ácido lácticas y las micrococáceas juegan un papel importante en la elaboración de los productos cárnicos madurados, ya que favorecen el desarrollo del aroma y del color de los productos curados (Flores, 1997).

6.3.5. Desarrollo de las características sensoriales

6.3.5.1. Color

En las salazones cárnicas, el color y su percepción visual está influenciado por la concentración de mioglobina, su nitrificación, oxidación y desnaturalización (Buscailhon y col., 1994) y la cantidad de grasa intramuscular (Rovira y col., 1996). El desarrollo del color así como el efecto de los parámetros anteriormente indicados, han sido descritos en capítulos anteriores de esta Revisión bibliográfica.

Revisión bibliográfica

6.3.5.2. Textura

La textura podría ser definida como la manifestación de los elementos estructurales de los alimentos en términos de apariencia, sensaciones que producen y la resistencia que ofrecen al aplicar fuerzas sobre ellos (Szczesniak, 1963).

La textura de los productos cárnicos crudos curados depende de factores como la materia prima de partida, las condiciones del proceso, el tiempo de curado (la pérdida de humedad), el grado de proteolisis (degradación de las proteínas miofibrilares) y el tejido conectivo. A lo largo del proceso de elaboración se va produciendo una disminución del contenido de agua que da lugar a la agregación de proteínas miofibrilares. También se produce una degradación total de estructuras proteicas como la titina, nebulina y troponina T y una degradación parcial de la cadena larga de miosina y de la actina lo que podría explicar el progresivo endurecimiento (Toldrá, 2004; Cilla, 2005).

En las primeras etapas del proceso de curado se producen roturas de las proteínas y cambios estructurales por acción de las proteasas musculares (Flores y col., 1987; Astiasarán y col., 1988; Toldrá y col., 1992, Toldrá y Aristoy, 1993; Monin y col., 1997). Cuanto más hidrolizadas estén las proteínas más blando será el producto final, por lo que un exceso de proteolisis puede producir una textura blanda y pastosa, difícil de lonchear y desagradable para el consumidor (Arnau, 1991; Virgili y col., 1995).

La hidrólisis proteica no es la única responsable de la textura del producto final. Así, la dinámica del secado influye de una manera importante en la textura final del producto. Un secado excesivamente rápido, da lugar a una dureza exterior o acortezamiento y blandura en la zona interna (Arnau, 1998).

6.3.5.3. Flavor

El flavor de un producto es el equilibrio entre compuestos volátiles, no volátiles y propiedades sápidas, que van a interaccionar con las proteínas y lípidos dando lugar a un conjunto de propiedades gustativas y olfativas. Los compuestos resultantes tanto de los cambios experimentados por las fracciones proteicas como lipídicas son los responsables de las características aromáticas y sápidas propias de las salazones cárnicas.

Revisión bibliográfica

La proteólisis genera una gran cantidad de aminoácidos y péptidos, que además de ser origen de sustancias volátiles, contribuyen a la mejora del sabor (Aristoy y Toldrá, 1998). Así, el sabor de la cecina depende en gran medida de la concentración de los diferentes aminoácidos y péptidos, así como del contenido de sal, ya que ésta potencia el sabor de los aminoácidos (Feiner, 2006). La cecina presenta un elevado contenido en NA constituido por una mezcla de leucina-isoleucina, lisina, metionina y prolina que contribuye a su aroma típico (García y col., 1997). Además, hay que destacar que algunos de estos aminoácidos son responsables de distintos sabores, como la leucina del sabor amargo, la alanina proporciona un sabor dulce y la valina y la lisina aportan un sabor dulce y amargo. También está presente el ácido glutámico, responsable del sabor umami (García y col., 1997).

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

1. ESQUEMA DEL TRABAJO EXPERIMENTAL

Tal como se ha descrito en el apartado de Objetivos, el trabajo experimental de la Tesis se ha dividido en dos etapas. Una primera la constituye la caracterización de la Cecina de León y un segundo bloque más amplio, que tiene como finalidad optimizar el proceso de elaboración de la Cecina de León. Esta segunda etapa se subdivide a su vez en:

- Estudio del efecto de la congelación de la materia prima y del peso de las piezas sobre el desarrollo de las características de la Cecina de León, a lo largo del proceso de elaboración (experimento 1 y experimento 2).
- Estudio del efecto de la utilización de diferentes agentes de curado sobre el desarrollo de las características de la Cecina de León, a lo largo del proceso de elaboración (experimento 3).
- Estudio del efecto del tiempo de curado sobre el desarrollo de las características de la Cecina de León (experimento 4).

2. MATERIAL BIOLÓGICO

Para la realización de este estudio se utilizaron un total de 115 piezas: 27 piezas de Cecina de León (tapas, contras y babillas) para la caracterización de este producto y 88 piezas de babillas frescas para la optimización de su proceso de elaboración.

2.1. CARACTERIZACIÓN DE LA CECINA DE LEÓN

Teniendo en cuenta que, de acuerdo con el Reglamento de la IGP Cecina de León (BOCyL, 1994), la Cecina de León puede ser elaborada a partir de diferentes piezas cárnicas, provenientes de los cuartos traseros de ganado vacuno, para la caracterización de este producto se utilizaron 9 cecinas elaboradas a partir de tapa, 9 cecinas elaboradas a partir de contra y 9 cecinas elaboradas a partir de babilla. Todas las piezas fueron proporcionadas por la IGP Cecina de León y procedían de

Material y métodos

empresas elaboradoras de cecina acogidas a dicha IGP. Las cecinas pertenecientes a cada uno de los tres tipos (tapa, contra y babilla) presentaban pesos homogéneos y tiempos de curación similares (Tabla 1). La pieza de cadera, aunque esta incluida dentro del reglamento de la IGP, no se suele utilizar en la elaboración de cecina por ser una piezas de pequeño tamaño.

Tabla 1. Características de las cecinas utilizadas en el estudio de caracterización de la Cecina de León.

| Pieza | <i>Nº Muestras</i> | <i>Peso (kg)</i> | <i>Tiempo curado (meses)</i> |
|----------------|--------------------|------------------|------------------------------|
| Tapa | 9 | 10-12 | 10-12 |
| Contra | 9 | 16-18 | 18 |
| Babilla | 9 | 10-12 | 10-12 |

¹ Peso correspondiente a la materia prima de partida.

2.2. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA CECINA DE LEÓN

Para la optimización del proceso de elaboración de la Cecina de León, se eligió la babilla como pieza de cecina a estudiar, ya que, en comparación con el resto de piezas que se utilizan para la elaboración de este producto, es de peso y tamaño intermedio. Las babillas frescas que se utilizaron para este estudio fueron proporcionadas por la IGP Cecina de León y el transporte de las piezas hasta la Estación Tecnológica de la Carne, se realizó bajo condiciones de refrigeración. Previamente a la elaboración, las 88 piezas de babilla fresca se dividieron en diferentes lotes en función de los parámetros a optimizar: peso de la materia prima, tratamiento de la materia prima (refrigeración /congelación), adición de agentes de curado (nitros y nitritos) y tiempo de curado.

La elaboración de Cecina de León a partir de estas babillas se realizó en la planta piloto de la Estación Tecnológica de la Carne, siguiendo el proceso de fabricación descrito en el Reglamento de la IGP Cecina de León (BOCyL, 1994). Las condiciones utilizadas en cada una de las etapas del proceso se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Condiciones de elaboración de la Cecina de León.

| Etapa | Tiempo | Temperatura (°C) | Humedad Relativa (%) |
|--------------|-----------------|-------------------------|-----------------------------|
| Perfilado | — | 0-5 | ambiente |
| Salado | 0,3-0,6 días/kg | 3-4 | 80-85 |
| Lavado | — | 2-5 | ambiente |
| Post-salado | 30-60 días | 3-4 | 80-85 |
| Ahumado | 5 días | 12-15 | 65-75 |
| Secado | 40 días | 10-12 | 80-75 |
| Maduración | >60 días | 10-15 | 75-65 |

3. PLANIFICACIÓN DEL TRABAJO EXPERIMENTAL

3.1. CARACTERIZACIÓN DE LA CECINA DE LEÓN

Con objeto de conseguir una muestra lo más homogénea posible, la toma de muestra, en cada una de las diferentes piezas de Cecina de León (tapa, contra y babilla), se realizó tras eliminar los extremos y partes exteriores de cada pieza. Posteriormente, se realizó la medida de pH, del color y de la textura instrumental. La muestra sobrante se dividió en dos partes, una de ellas se utilizó para el análisis sensorial descriptivo con un panel de catadores entrenados y la otra, se trituró para el análisis de la humedad y de la a_w . La muestra triturada sobrante, para facilitar su conservación, fue liofilizada y almacenada en frascos de cristal herméticos, en condiciones de refrigeración, hasta su análisis.

El desarrollo del trabajo experimental aparece esquematizado en la Figura 10.

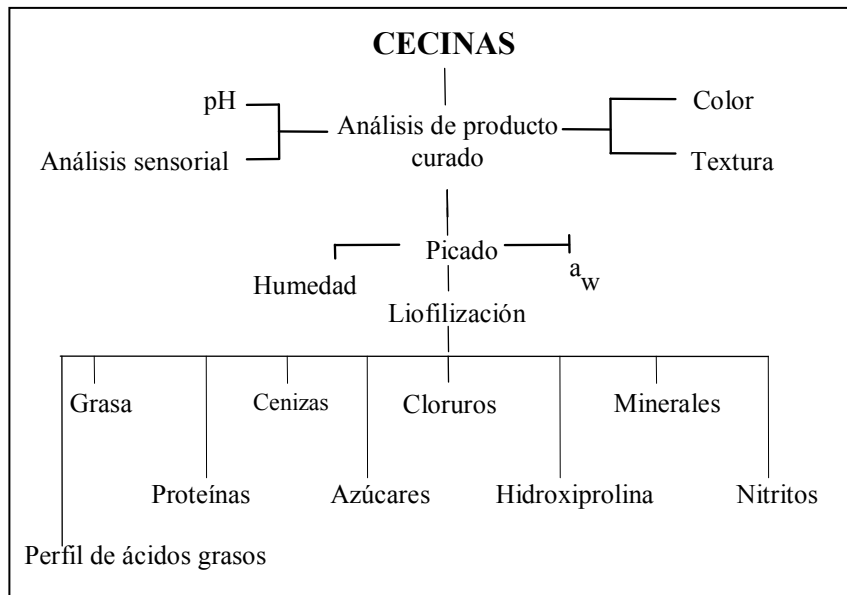


Figura 10. Esquema de la distribución de las determinaciones analíticas realizadas para la caracterización de la Cecina de León.

3.2. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA CECINA DE LEÓN

Con el fin de optimizar el proceso de elaboración de la Cecina de León, las 88 babillas frescas utilizadas como materia prima, se dividieron como se describe a continuación:

- 40 babillas frescas se destinaron para el estudio del efecto del peso de la materia prima y del tratamiento de la misma (experimento 1 y experimento 2).
- 36 babillas frescas se utilizaron para el estudio del efecto de la utilización de diferentes agentes de curado (experimento 3).
- 12 babillas frescas para el estudio del efecto del tiempo de curado (experimento 4).

3.2.1. Influencia del peso y del tratamiento de la materia prima

Con objeto de optimizar tanto el peso como el tratamiento de la materia prima, este apartado se dividió en dos experimentos: experimento 1, en el que se evaluó el efecto del peso de la materia prima y del tratamiento de la misma (refrigeración/congelación) sobre las características finales de la Cecina de León y experimento 2, en el que se evaluó el efecto de la congelación de la materia prima sobre el desarrollo de las características de la Cecina de León a lo largo del proceso de elaboración.

3.2.1.1. Experimento 1

Para llevar a cabo este experimento, 16 babillas frescas se dividieron en 2 lotes en función de su peso, y a su vez éstos, se subdividieron en función del tratamiento dado a la materia prima. Los lotes establecidos así como el número de piezas por lote se muestran en la Tabla 3.

Las piezas correspondientes a los sublotes refrigerados se mantuvieron a 4 °C durante 11 días, mientras que las piezas correspondientes a los lotes congelados se mantuvieron congeladas a -20 °C durante 7 días y se descongelaron a 4 °C. El proceso de elaboración fue similar en todos los lotes excepto el tiempo de salado, siendo éste de 3 días para los sublotes refrigerados y de 2 días para los sublotes congelados. El resto de condiciones de elaboración son las que anteriormente se han descrito en la Tabla 2.

Tabla 3. Lotes establecidos en el estudio del efecto del peso y del tratamiento de la materia prima sobre las características de la Cecina de León.

| <i>Lote</i> | <i>Peso (kg)</i> | <i>Tratamiento</i> | <i>Nº Piezas</i> |
|-------------|------------------|--------------------|------------------|
| Peso bajo | 5,1 ± 0,1 | Refrigeración | 4 |
| | | Congelación | 4 |
| Peso alto | 10,1 ± 0,1 | Refrigeración | 4 |
| | | Congelación | 4 |

En todos los lotes se utilizaron piezas enteras para realizar los análisis correspondientes al día 0 (materia prima) y a los 210 días (producto final) y los análisis realizados son los que se detallan en la Figura 11. Las determinaciones de color y textura de forma instrumental, así como el análisis sensorial descriptivo

Material y métodos

realizado con un panel de catadores entrenados solamente se llevaron a cabo en el producto final.

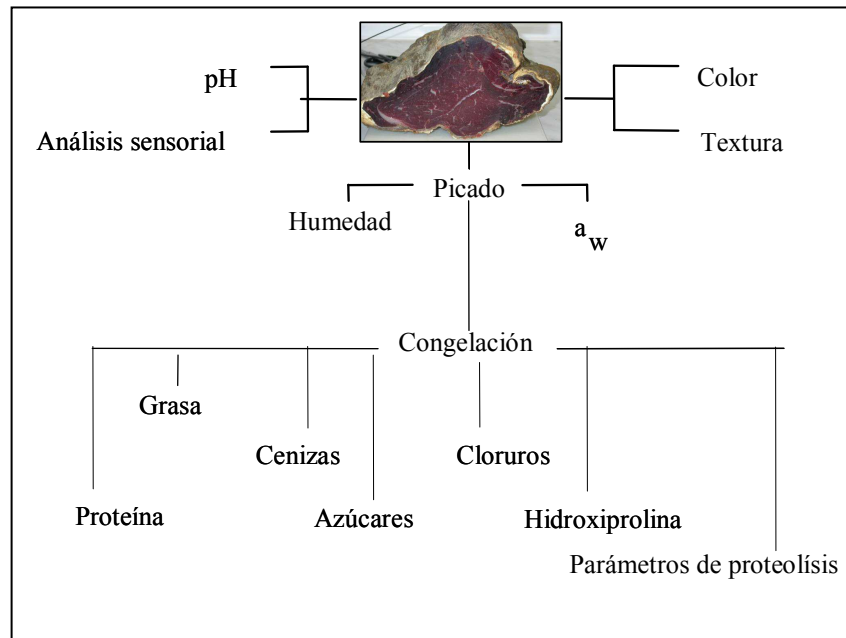


Figura 11. Esquema de la distribución de las determinaciones analíticas realizadas en el experimento 1.

3.2.1 2. Experimento 2

Para llevar a cabo este experimento se utilizaron 24 babillas frescas con un peso medio de $10,1 \pm 0,1$ kg. Las piezas se dividieron en 2 lotes:

- Lote refrigerado: 12 babillas frescas refrigeradas a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 11 días.
- Lote congelado: 12 babillas que se mantuvieron congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 7 días y se descongelaron a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

El proceso de elaboración fue similar en ambos lotes excepto en el tiempo de salado, siendo éste de 3 días en el lote refrigerado y de 2 días en el lote congelado. El resto de las condiciones de elaboración son las que aparecen recogidas en la Tabla 2.

Material y métodos

En cada uno de estos lotes se tomaron muestras el día 0 (materia prima), el día 40 (final postsalado), el día 60 (final ahumado), los días 120, 180, 210, 250, 300 (diferentes puntos a lo largo del secado-maduración) y el día 360 (producto final).

La toma de muestra, para estudiar la evolución durante el proceso de elaboración, se realizó extrayendo un cilindro de 2,5 cm de diámetro de la zona central de las piezas, con un taladro especialmente preparado para ello (Figura 12). Cada agujero realizado en la pieza fue rellenado con manteca para permitir el desarrollo normal del proceso de curación.

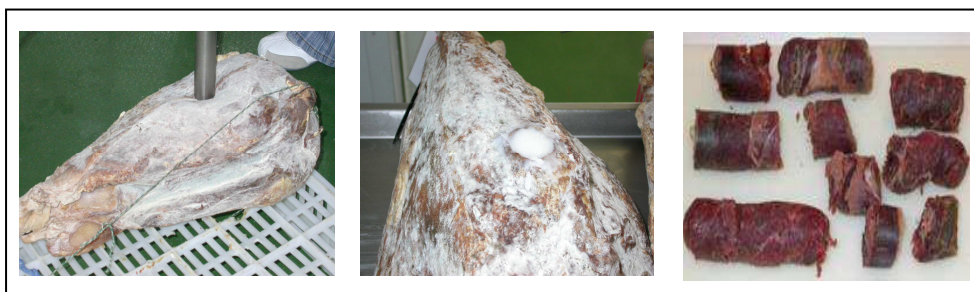


Figura 12. Toma de muestra con un cilindro de acero inoxidable; hueco de la pieza relleno de manteca y muestra extraída para el análisis.

El cilindro obtenido en cada toma de muestra se acondicionó para su análisis eliminando los extremos. Posteriormente, se realizaron los análisis microbiológicos (flora aerobia mesófila viable, micrococaceas, bacterias ácido lácticas y enterobacterias) y las determinaciones de pH, de actividad de agua, de humedad y de textura instrumental. La muestra sobrante se trituró y se congeló a -80°C hasta la realización del resto de análisis. Las determinaciones analíticas realizadas en este experimento aparecen esquematizadas en la Figura 13.

En los días de muestreo 0, 210 y 360 se utilizaron piezas enteras para la realización de los análisis ya mencionados y la determinación del color de forma instrumental en la superficie de corte de las cecinas. Además, en el producto acabado se realizó un análisis sensorial descriptivo con un panel de catadores entrenados.

Material y métodos

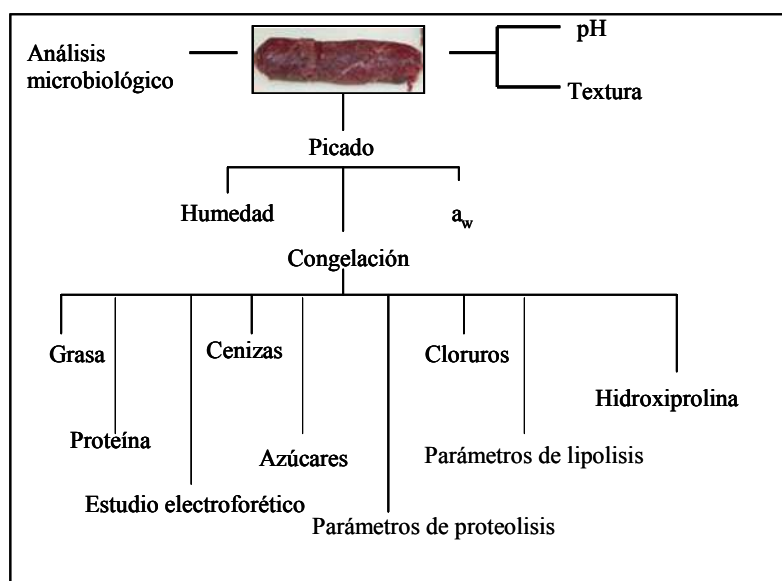


Figura 13. Esquema de la distribución de las determinaciones analíticas realizadas en el experimento 2.

3.2.2. Influencia de la utilización de agentes de curado

Para estudiar el efecto de la adición de diferentes agentes de curado (experimento 3), 36 piezas de babilla fresca, con un peso medio de $10,1 \pm 0,1$ kg, se dividieron en tres grupos de 12 piezas, de modo que se establecieron los lotes que aparecen recogidos en la Tabla 4. La adición de nitratos y nitritos, en el lote sal y nitratos y en el lote sal, nitratos y nitritos se realizó tras su mezcla con sal, aplicándose manualmente antes de realizar el salado en pilas.

Tabla 4. Lotes establecidos en el estudio del efecto de la utilización de diferentes agentes de curado sobre el desarrollo de las características de la Cecina de León.

| <i>Lote</i> | <i>Nitratos</i> ¹ | <i>Nitritos</i> ¹ | <i>Nº Piezas</i> |
|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------|
| Con sal | — | — | 12 |
| Con sal y nitratos | 300 ppm | — | 12 |
| Con sal, nitratos y nitritos | 150 ppm | 150 ppm | 12 |

¹ Niveles permitidos en el Anexo III del RD 142/2002, vigente en el momento de realización del estudio.

El proceso de elaboración fue similar en los tres lotes y, en cada uno de estos lotes, se tomaron muestras el día 0 (materia prima), a los 60 días (final ahumado) y

a los 120, 180, 210, 250, 300 y 360 días (diferentes puntos a lo largo del secado-maduración).

La toma de muestra, para estudiar la evolución del proceso de elaboración, se realizó extrayendo un cilindro de muestra de 2,5 cm de diámetro de la zona central de las piezas, de la forma que ha sido descrita en el experimento 2.

El cilindro obtenido en cada toma de muestra se acondicionó para su análisis eliminando los extremos. Posteriormente, se realizaron los análisis microbiológicos (flora aerobia mesófila viable, micrococaceas, bacterias ácido lácticas y enterobacterias) y las determinaciones de pH, de actividad de agua y de humedad. La muestra sobrante se trituró y se congeló a -80 °C hasta la realización del resto de análisis (determinación del contenido en cloruros, nitratos y nitritos). A los 210 y 360 días de determinó el color de forma instrumental, se realizó un análisis sensorial descriptivo con un panel de cata entrenado y pruebas triangulares y de preferencias con un panel formado por 100 consumidores.

3.2.3. Influencia del tiempo de curado

Con objeto de estudiar el efecto del tiempo de curado sobre el desarrollo de las características de la Cecina de León (experimento 4) se utilizaron 12 piezas de babilla fresca, con un peso medio de $12,1 \pm 0,1$ kg, que se dividieron en tres lotes. El proceso de elaboración fue igual en los 3 lotes, excepto en el tiempo de curado (Tabla 5).

Tabla 5. Lotes establecidos en el estudio del efecto del tiempo de curado sobre el desarrollo de las características de la Cecina de León.

| <i>Lote</i> | <i>Tiempo de curación</i> | <i>Nº piezas</i> |
|----------------|---------------------------|------------------|
| Curación corta | 210 días | 4 |
| Curación media | 270 días | 4 |
| Curación larga | 360 días | 4 |

A los 210 días (7 meses), 270 días (9 meses) y 360 días (12 meses) de elaboración se realizó la toma de muestras, utilizándose 4 piezas enteras en cada punto para la realización de las determinaciones analíticas que se recogen en la Tabla 6. Además, en este experimento también se realizó una prueba triangular y una prueba de preferencia con un panel formado por 100 consumidores.

Material y métodos

Tabla 6. Análisis realizados en el estudio del efecto del tiempo de curado sobre el desarrollo de las características de la Cecina de León.

| Días de muestreo | Análisis |
|------------------|---|
| 210 | Microbiológicos: <ul style="list-style-type: none">- Recuento de FAMV(1)- Recuento de enterobacterias- Recuento de BAL(2)- Recuento de micrococaceas |
| 270 | Físico-Químicos: <ul style="list-style-type: none">- pH- a_w- Humedad- Grasa- Proteína- Cloruros- Azúcares- Hidroxiprolina- Parámetros de lipólisis- Parámetros de proteólisis- Estudio electroforético |
| 360 | Sensoriales: <ul style="list-style-type: none">- Medida Instrumental: color y textura- Prueba descriptiva con panel de catadores- Pruebas triangular y de preferencia con consumidores |

(1) FAMV: Flora aerobia mesófila viable. (2) BAL: Bacterias ácido lácticas

4. ANÁLISIS

Las técnicas utilizadas para la determinación de los distintos parámetros microbiológicos, físico-químicos y sensoriales, están basados, en su mayor parte, en los métodos oficiales descritos bien por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA) o por la Organización Internacional de Estandarización (ISO). El resto de los análisis han sido realizados según métodos descritos en la bibliografía científica. Todos los análisis han sido realizados por triplicado.

4.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

4.1.1. Preparación de la muestra

Mediante la utilización de bisturí y de pinzas estériles, en ambiente estéril, se tomaron $10 \pm 0,1$ g de muestra, los cuales se introdujeron en una bolsa estéril con filtro para su homogeneización con 90 ml de agua de peptona.

La bolsa con la muestra y el diluyente se homogeneizaron durante 2 minutos en un homogenizador de paletas PK 400 (Masticator IUL, S.A., Barcelona) y, transcurrido este tiempo, se filtró el contenido de la bolsa en un erlenmeyer esterilizado obteniéndose así la dilución madre (dilución 1:10) que se utilizó para la preparación de las posteriores diluciones decimales, de acuerdo con la forma de proceder habitual en microbiología.

4.1.2. Flora aerobia mesófila viable (FAMV)

A partir de la serie de diluciones decimales, y por duplicado, se depositó con una pipeta estéril, 1 ml de cada dilución, en placas Petri estériles. A continuación, se añadieron 15 ml de agar PCA (Plate Count Agar, Scharlau Chemie, Barcelona, España), previamente atemperado a 45-50 °C. Se dejaron solidificar las placas sobre una superficie horizontal y, posteriormente, se incubaron a 30 °C durante 72 horas.

4.1.3. Enterobacterias

A partir de la serie de diluciones decimales, y por duplicado, se depositó con una pipeta estéril, 1 ml de cada dilución, en placas Petri estériles. A continuación, se añadieron 15 ml de agar VRBGA (Violet Red Bile Glucosa Agar, Scharlau Chemie, Barcelona, España), previamente atemperado a 45-50 °C. Se dejaron solidificar las placas sobre una superficie horizontal y, posteriormente, se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

4.1.4. Bacterias ácido lácticas (BAL)

A partir de las diluciones decimales, y por duplicado, se depositó 0,1 ml de cada dilución, en placas previamente preparadas de agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe, Scharlau Chemie, Barcelona, España). El inóculo se extendió con un asa de Digralsky, por toda la superficie de las placas, y se incubaron a 30 °C durante 48 horas en condiciones de anaerobiosis.

Material y métodos

4.1.5. Micrococaceas

A partir de las diluciones decimales, y por duplicado, se depositó 0,1 ml de cada dilución, en placas previamente preparadas de agar MSA (Mannitol, Salt Agar, Scharlau Chemie, Barcelona, España). El inóculo se extendió con un asa de Digralsky, por toda la superficie de las placas y se incubaron a 37 °C durante 48 horas.

4.2. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

4.2.1. Determinación de pH por punción

Para la determinación de este parámetro, se utilizó un pH-metro 507 (Crison, Barcelona, España) provisto de un electrodo de punción. El valor de pH se determinó mediante lectura directa, introduciendo el electrodo de punción en la pieza de cecina a temperatura ambiente. La medida se realizó, una vez calibrado el aparato, en 3 puntos a lo largo de la superficie de la pieza de cecina, eligiendo para todas las muestras puntos similares.

4.2.2. Determinación de la actividad de agua (a_w)

La medida de la a_w se realizó con un higrómetro, basado en la determinación del punto de rocío. El equipo que se utilizó fue el modelo AQUA LAB CX-2 (Decagon, Washington, USA). Para la estabilización del aparato se utilizó agua destilada y una solución saturada de cloruro potásico. Una vez estabilizado, se colocó la muestra previamente picada en una cápsula de plástico formando una fina capa que cubría totalmente el fondo. Posteriormente, cada una de las cápsulas se introdujo en el equipo para la lectura digital de la a_w y la temperatura. La medida se realizó por triplicado.

4.2.3. Determinación de la humedad

La humedad de las muestras se determinó siguiendo el procedimiento gravimétrico descrito por la ISO 1442 (1997) basado en la pérdida por desecación del contenido de agua presente en la muestra.

Sobre una cápsula con arena de mar y una varilla se pesaron 8 g de muestra triturada. Con ayuda de la varilla, la muestra fue homogeneizada hasta obtener una pasta, que se desecó, en una estufa a 103 °C, hasta obtener un peso constante.

Posteriormente, la cápsula se enfrió en un desecador, hasta alcanzar la temperatura ambiente y el porcentaje de humedad se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \times 100$$

donde M_0 es la masa (g) de la cápsula, la varilla y la arena de mar, M_1 es la masa (g) de la cápsula, la varilla, la arena de mar y la muestra antes del secado, M_2 es la masa (g) de la cápsula, la varilla, la arena de mar y la muestra después del secado.

Esta medida se realizó por triplicado y los valores de humedad obtenidos se utilizaron para la conversión de la composición centesimal de las muestras a materia seca.

4.2.4. Determinación de proteínas

La determinación de la proteína bruta se realizó según el procedimiento ISO R-937 (1978) en el que se calcula el nitrógeno total presente en la muestra mediante la determinación de los grupos -NH de la proteína verdadera, el nitrógeno amínico y amídico. La cantidad de nitrógeno obtenido se transforma en contenido proteico haciendo uso del factor de conversión 6,25.

Sobre papel desengrasado libre de nitrógeno se pesó 1 g de muestra y se añadió a un tubo de digestión junto con 15 g de catalizador (99,9 % de sulfato potásico y 0,1 % de selenio) y 25 ml de H₂SO₄ concentrado (95-98%), colocándose a continuación en el bloque calefactor (Foss-Tecator, Izasa, Barcelona, España) a 420 °C, donde permaneció hasta obtener una solución completamente transparente. Una vez realizada la digestión se procedió a la destilación de la muestra con un Kjeldhal Gerhardt Vapodest-33, (Foss-Tecator, Izasa, Barcelona, España) y neutralización de la muestra con NaOH al 40%. Los iones amonio arrastrados con la destilación fueron recogidos en una solución de ácido bórico al 4% con 5 ml de indicador mixto (0,2 g de azul de metileno y 0,1 g de rojo de metilo disueltos en 100 ml de etanol), variando el color de azul a verde en función de los iones amonio presentes en la muestra. Finalmente, se realizó la valoración del destilado con la solución de HCl 0,1N para determinar la cantidad de amoniaco absorbido por el ácido bórico.

Para el cálculo del porcentaje de proteína se utilizó la siguiente ecuación:

Material y métodos

$$\text{Proteína bruta (\%)} = \frac{(V_2 - V_1) \times N}{P} \times 1,4 \times 6,25$$

donde V_1 es el volumen (ml) de HCl requerido para la valoración del blanco, V_2 el volumen (ml) de HCl requerido para la muestra problema, N la normalidad de la solución de HCl, P el peso (g) de la muestra y 6,25 el factor usado para la conversión del porcentaje de nitrógeno en proteína.

4.2.5. Determinación de grasa

La determinación del contenido graso se realizó mediante el procedimiento gravimétrico ISO 1443 (1973), utilizando un extractor tipo Soxhlet (Cruma, Barcelona, España). Dado que los lípidos presentes en las muestras a analizar pueden estar parcialmente ligados o absorbidos a proteínas y/o carbohidratos, antes de la extracción propiamente dicha se realizó un tratamiento ácido de la muestra.

Para ello, se pesaron 2 g de muestra en un matraz Erlenmeyer y tras añadir 50 ml de HCl 4N y unos trozos de piedra pómez, la mezcla se sometió a ebullición suave, en un baño de arena, durante una hora. Tras enfriar a temperatura ambiente el hidrolizado obtenido se procedió a su filtración en un filtro de pliegues. El residuo y el filtro se lavaron cuidadosamente con agua desionizada hasta que el agua de lavado dio reacción neutra, lo que se comprobó utilizando papel indicador de pH.

El filtro de pliegues húmedo se secó en una estufa a 103°C, tras lo cual se colocó en un cartucho de extracción dentro de un vaso de extracción, al que se añadieron 100 ml de éter de petróleo. La extracción se realizó en un extractor Soxhlet, tras varios pases con éter de petróleo, quedando la grasa de la muestra depositada en el fondo del vaso después de la evaporación del solvente. Tras enfriar los vasos de extracción con la grasa en un desecador, se procedió a su pesada.

El porcentaje de grasa total se calculó según la siguiente ecuación:

$$\text{Grasa bruta (\%)} = \frac{P_1 - P_2}{P} \times 100$$

donde P_2 es el peso (g) del vaso con el extracto etéreo, P_1 es el peso (g) del vaso de extracción vacío, P el peso (g) de la muestra empleada.

4.2.6. Determinación de cenizas

La determinación de las cenizas se realizó siguiendo el procedimiento gravimétrico ISO 936 (1998). Esta técnica consiste en la carbonización de la muestra en un baño de arena a 100 °C y posterior incineración, en un horno mufla, hasta obtener cenizas blancas.

En un crisol de porcelana, se pesó 1 g de muestra y se añadió 1 ml de acetato de magnesio, tras lo cual, se colocó el crisol en un baño de arena termostático (Precisem Selecta, Madrid, España) hasta su carbonización. Una vez carbonizada la muestra se procedió a su incineración en una mufla Heraeus (Hanau, Alemania) a 500-550 °C hasta la obtención de cenizas completamente blancas, sin restos de materia orgánica.

El porcentaje de cenizas se calculó según la expresión:

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{P_2 - P_0}{P_1 - P_0} \times 100$$

donde P_0 es el peso (g) del crisol vacío, P_1 es el peso (g) del crisol con la muestra, P_2 es el peso del crisol con las cenizas (g).

4.2.7. Determinación de azúcares

Para la extracción de los azúcares se siguió el método de Luff-Schoorl (BOE, 1979) en el que, tras la inversión de los azúcares presentes en un extracto previamente obtenido, se realiza la cuantificación de los mismos.

En un matraz erlenmeyer se pesaron 10 g de la muestra, 0,5 g de carbón activo y se añadieron 100 ml de agua desionizada previamente calentada. Posteriormente, el matraz se llevó a un baño de agua en ebullición durante 15 minutos. Una vez enfriada la mezcla a temperatura ambiente, se añadió sucesivamente 2 ml de reactivo de Carrez I (solución acuosa de hexacianoferrato (II) de potasio) y 2 ml de reactivo de Carrez II (solución acuosa de acetato de zinc). La solución resultante se agitó, y tras 30 minutos de reposo se trasvasó a un matraz aforado, se enrasó a 250 ml con agua desionizada y la solución resultante se filtró. El extracto así obtenido

Material y métodos

contiene los azúcares, cloruros y nitritos presentes en la muestra de partida.

Para la inversión de los azúcares se tomaron 50 ml del extracto y se añadieron 4 gotas de naranja de metilo como indicador y HCl 4N hasta que se produjo el cambio de color. A la solución resultante se le añadieron 15 ml de HCl 0,1N y se procedió a su calentamiento en un baño de agua durante 30 min. Una vez atemperada la solución, se añadieron 15 ml NaOH 0,125N hasta que se produjo de nuevo el viraje del indicador. El volumen se enrasó a 100 ml con agua desionizada.

Finalmente, la cuantificación de los azúcares totales presentes en el extracto de la muestra se realizó mediante valoración. Se mezclaron 25 ml de la disolución anteriormente obtenida y 25 ml del reactivo de Luff-Schoorl y se mantuvieron en ebullición durante 2 minutos con un mechero y 10 minutos en un baño de arena. Una vez enfriada la disolución, se añadieron 2 ml de solución de KI (3 g de KI en 2 ml de agua desionizada) y 25 ml de H₂SO₄ 6N y se procedió a la valoración del iodo liberado con una solución de tiosulfato sódico 0,1N hasta alcanzar un color amarillo débil, tras lo que se añadió como indicador 1 ml de solución de almidón (1%) y se continuó la valoración hasta la decoloración total de la solución.

El reactivo de Luff-Schoorl se obtuvo mezclando cuidadosamente 500 ml de solución *A* (50 g de ácido cítrico disueltos en 500 ml de agua desionizada) con 300 ml de solución *B* (143,8 g de carbonato de sodio anhidro disueltos en 300 ml de agua desionizada previamente calentada) y, añadiendo finalmente, 100 ml de solución *C* (2,5 g de sulfato de cobre pentahidratado exento de hierro disueltos en 100 ml de agua desionizada). La solución así obtenida se dejó en reposo durante 12 horas, transcurrida las cuales, se filtró y se enrasó a 1 l con agua desionizada. Además se verificó que el pH de la solución era de $9,4 \pm 0,2$.

El porcentaje de azúcares totales en la muestra se calculó con la siguiente expresión:

$$\text{Azúcares totales (\%)} = \frac{(25 \times a)}{P \times V}$$

donde *a* es la diferencia entre el volumen de tiosulfato (ml) gastado en la valoración del blanco y el volumen (ml) gastado en la valoración de la muestra, *P* es el peso (g) de la muestra inicial de la que se obtuvo el extracto, *V* es el volumen (ml) de alícuota tomada y 25 es el factor de dilución.

4.2.8. Determinación de hidroxiprolina

La determinación de la hidroxiprolina se realizó según el método de Bonnet y Kopp (1984), que se basa en una hidrólisis intensa de las proteínas en medio ácido y en caliente, que libera los residuos de hidroxiprolina de la muestra. La oxidación de la hidroxiprolina por la acción de la cloramina T da lugar a derivados de tipo pirrol que reaccionan con un reactivo coloreado (4-dimetilaminobenzaldehído) para dar lugar a compuestos de color rojo que se valoran espectrofotométricamente a 560 nm.

En un papel desengrasado se pesaron 3 g de muestra y el conjunto se introdujo con 50 ml de HCl al 50 % en un matraz redondo de boca esmerilada que se colocó a reflujo en un baño de arena (Precisterm Selecta, Madrid, España) y se mantuvo a ebullición suave durante 7 horas. Una vez enfriado el hidrolizado se añadieron 28 ml de una solución concentrada de NaOH al 40% y se ajustó el pH entre 6-7 con una solución diluida de NaOH al 10%. Posteriormente, la solución así obtenida se trasvasó a un matraz aforado de 200 ml, que tras ser enrasado con agua desionizada, se dejó en reposo durante 1 hora, antes de filtrar la solución. Del filtrado obtenido, se tomaron 5 y 10 ml que se llevaron a 100 ml con agua desionizada obteniendo así las diluciones 10 y 20, respectivamente.

Para la cuantificación de la hidroxiprolina, a 1 ml de cada una de las diluciones realizadas se le añadieron 2 ml de 2-propanol y 1 ml de una solución oxidante formada por un volumen de solución de cloramina T al 10,5% con 4 volúmenes de solución tampón de pH 6 (5,5 g de ácido cítrico anhidro, 38,88 g de citrato trisódico dihidrato y 34 g de acetato sódico anhidro disueltos en 385 ml de 2-propanol y enrasados a 1 l con agua desionizada). Esta mezcla se agitó y se dejó en reposo 10 minutos. Transcurrido este tiempo, se adicionaron a cada tubo 3 ml de la solución de ácido perclórico al 17,5% y 2 ml de la solución de 4-dimetilaminobenzaldehído (DMAB) al 5%, se mezclaron y la solución resultante se mantuvo en baño de agua a 60 °C durante 20 minutos. Tras enfriar los tubos en agua, se adicionaron 3 ml de 2-propanol a cada tubo, se mezcló su contenido y se procedió a la lectura de la absorbancia a 560 nm en un espectrofotómetro UV/Vis, modelo DU® 640 (Beckman). De modo similar, para la obtención de la curva patrón, se realizó la cuantificación de la hidroxiprolina en soluciones patrón que

Material y métodos

contenían 0,4, 1, 2, 4 y 10 mg/L. Un ejemplo de la curva de calibrado obtenida se muestra en la Figura 14.

El porcentaje de hidroxiprolina en las muestras problema se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Hidroxiprolina (\% en materia fresca)} = \frac{(C \times D)}{50 \times M}$$

donde C es la concentración de hidroxiprolina obtenida en la curva patrón (mg/l), D es la dilución del filtrado realizado, M es el peso de la muestra (g).

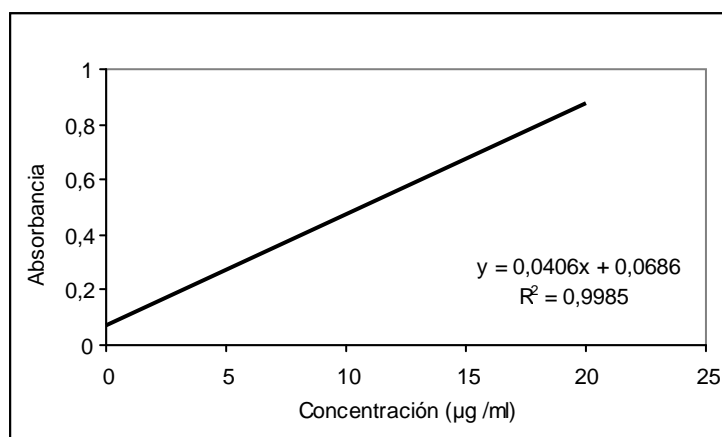


Figura 14. Curva de calibrado para la cuantificación de la hidroxiprolina.

4.2.9. Determinación de cloruros

La determinación de cloruros tras la extracción de los mismos se realizó siguiendo el procedimiento de la ISO 1841-1 (1996) que se basa en el método de Volhard en el que tras la acidificación del extracto que contiene los cloruros, se adiciona un exceso de nitrato de plata que se valora por retroceso con tiocianato.

En un matraz erlenmeyer de 250 ml se añadieron 20 ml del extracto (preparado de la forma que ha sido descrita en el apartado 4.2.7.) y 5 ml de HNO_3 4 M. Posteriormente, se añadieron 20 ml de solución de AgNO_3 0,1 M y como indicador 1 ml de disolución de sulfato de amonio y hierro (III), procediéndose a la

valoración del exceso de plata con tiocianato de potasio 0,1 N hasta el cambio del color de la solución a rosa-pálido permanente.

El porcentaje de cloruros en la muestra se calculó según la expresión:

$$NaCl (\%) = 0,05844 \times (V_b - V) \times \frac{250}{A} \times \frac{100}{m} \times 0,1$$

donde m es el peso (g) de muestra de la que se ha obtenido el extracto, V es el volumen (ml) de tiocianato gastado en la valoración de la alícuota del extracto, V_b es el volumen (ml) de tiocianato gastado en la valoración del blanco, 5,844 son los mg de NaCl que corresponden a 1ml de la solución valorante de $AgNO_3$, A es el factor de dilucción (10).

4.2.10. Determinación de nitritos

La determinación de los nitritos se realizó según la norma ISO 2918 (1975). Una vez obtenido el extracto que contenía los nitritos su concentración se determinó por diazotización del ácido sulfanílico y el acoplamiento posterior con N-(1-naftil)-etilendiamina, que da lugar a la aparición de un color rosa cuya absorbancia es medida espectrofotométricamente a 520 nm.

Para la determinación espectrofotométrica del nitrito en el extracto previamente obtenido (preparado de la forma que ha sido descrita en el apartado 4.2.7.), se mezclaron 10 ml del mismo con 10 ml del reactivo colorimétrico. La solución resultante fue agitada y almacenada en oscuridad durante 20 minutos, transcurridos los cuales se procedió a la medida de la absorbancia a 520 nm en un espectrofotómetro UV/Vis, modelo DU® 640 (Beckman), obteniéndose la concentración de nitrito presente en el extracto por interpolación en la recta de calibrado.

El reactivo colorimétrico se obtuvo mezclando volúmenes iguales de las soluciones I y II. La solución I se preparó disolviendo al baño María 6 g de ácido sulfanílico en 200 ml de ácido acético glacial y 400 ml de agua desionizada. Posteriormente se añadieron 200 ml de una solución de cloruro sódico al 10% y el volumen final se enrasó a 1 l con agua desionizada. La solución II se obtuvo tras disolver 0,3 g de cloruro de α -naftilamina en 100 ml de agua desionizada, la solución obtenida se filtró, y se añadieron 200 ml de ácido acético glacial, enrasándose el volumen a 1 l con agua desionizada.

Material y métodos

Para elaborar la curva de calibrado, en soluciones patrón, que contenían 0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 y 0,5 $\mu\text{g/ml}$ de nitrito sódico, se cuantificó del nitrito, según el procedimiento anteriormente descrito. Un ejemplo de la curva de calibrado obtenida se muestra en la Figura 15.

El contenido en nitritos de la muestra, expresado en ppm de nitrito sódico se calculó como:

$$\text{Nitrito sódico (ppm de NaNO}_2) = \frac{2500 \times C}{m \times V}$$

donde m es el peso de muestra (g) de la que se ha obtenido el extracto, V es el volumen (ml) tomado del extracto, C es la concentración de nitrito sodio ($\mu\text{g/ml}$) determinada sobre la curva patrón.

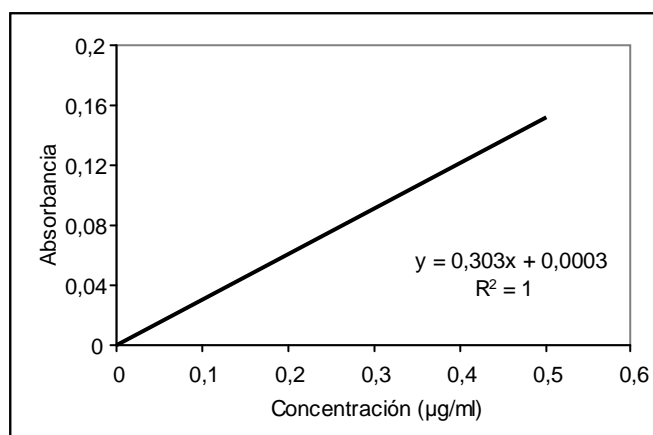


Figura 15. Curva de calibrado para el cálculo del contenido de nitritos.

4.2.11. Determinación de nitratos

El contenido de nitratos se determinó mediante cromatografía líquida de acuerdo con el método desarrollado por Merino y col. (2000).

Para la extracción de nitratos, a 5 g de muestra se le añadieron 50 ml de agua desionizada caliente (aproximadamente a 55 $^{\circ}\text{C}$), manteniéndose a esta temperatura, con agitación magnética, durante aproximadamente 1 hora. El extracto obtenido se llevó a un matraz aforado de 200 ml que se enrasó con agua desionizada. Posteriormente, se filtraron 100 ml de la disolución resultante. El

extracto fue filtrado de nuevo, mediante una jeringa con un filtro de 0.45 μ m y se trasvasó a un tubo cromatográfico. Una vez obtenido el extracto se procedió a su análisis y cuantificación mediante cromatografía líquida de alta resolución, utilizando un cromatógrafo Agilent Technologies, 1100 Series con una columna aniónica (Metrosep A Supp 5, de 250 mm de longitud y 4,0 mm diámetro interno). El flujo de la fase móvil (NaHCO_3 1,0 mmol/l - Na_2CO_3 3,2 mmol/l) fue de 0,7 ml/min. El volumen de inyección fue de 10 μ l. La cuantificación se realizó mediante el uso de una curva de calibrado.

Para la obtención de la curva patrón, se realizó la cuantificación del nitrato en soluciones patrón de nitrato.

4.2.12. Determinación de minerales

La composición mineral (Na, K, Ca, Zn, Fe y Cu) se determinó por Espectroscopía de Emisión en Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-AES) de acuerdo con el método descrito por González-Martín y col. (2002) y fueron analizadas por el servicio de Análisis Químico de la Universidad de Salamanca.

4.2.13. Determinación del perfil de ácidos grasos

Para el estudio del perfil de ácidos grasos se realizó una extracción a temperatura ambiente con un disolvente orgánico de los lípidos totales presentes en la muestra liofilizada mediante el método de Bligh y Dyer (1959) y, posteriormente, se llevó a cabo una metilación en caliente, mediante la técnica Morrison y Smith (1964), para obtener los ésteres metílicos de los ácidos grasos, que se separaron y cuantificaron por cromatografía de gases.

Para la extracción de los ácidos grasos se homogeneizaron 20 g de muestra con 60 ml de una solución 1:2 cloroformo:metanol, con un ultraturrax durante 2 minutos. El extracto así obtenido se centrifugó a 7.000 rpm durante 5 minutos y el sobrenadante resultante se trasvasó a un embudo de decantación y en el precipitado se repitió la extracción dos veces con 20 ml de cloroformo. Finalizada la extracción, en el embudo de decantación se añadieron 20 ml de agua desionizada y el contenido total se agitó y se dejó en reposo 12 horas hasta su separación en tres fases: una fase superior, una fase intermedia compuesta por impurezas y una fase inferior orgánica que contenía los ésteres metílicos. Una vez separada la fase

Material y métodos

orgánica, ésta se filtró sobre sulfato de sodio anhidro en un matraz de fondo redondo, para evaporar posteriormente el disolvente en rotavapor.

Una vez evaporado el disolvente, en un tubo de ensayo, se pesaron 0,20 g de la grasa obtenida anteriormente y se añadieron 1 ml de BF_3 y 1 ml de tolueno, agitando suavemente hasta la disolución de la grasa en dichos reactivos. Esta solución se calentó en un baño a $100\text{ }^\circ\text{C}$ durante 45 minutos y, una vez enfriada, se añadieron 1 ml de hexano y 0,5 ml de agua desionizada. Tras centrifugar la mezcla a 2000 rpm durante 5 minutos se recogió la fase superior de la disolución, que contenía los ésteres metílicos.

Una vez obtenidos los ésteres metílicos de los ácidos grasos de la grasa, se procedió a su separación y cuantificación mediante cromatografía de gases con detector FID, utilizando un cromatógrafo Perkin-Elmer Autosystem XL con una columna Omegawax 320. La temperatura tanto del inyector como del detector fue de $260\text{ }^\circ\text{C}$. El gas portador fue helio a 11 psi. El tamaño de la muestra fue de $0,5\text{ }\mu\text{l}$. La identificación de los ésteres metílicos individuales cuantificados (y, por tanto, de los ácidos grasos) se realizó por comparación con estándares. Los cromatogramas obtenidos fueron similares al recogido en la Figura 16.

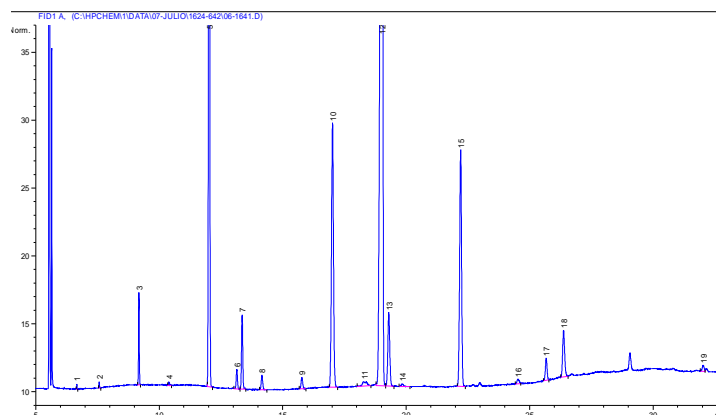


Figura 16. Ejemplo de cromatograma obtenido en la determinación del perfil de ácidos grasos.

Finalmente, los resultados obtenidos se expresaron como porcentaje de cada ácido graso identificado sobre el total de ácidos grasos. Además, se calcularon los porcentajes de ácidos grasos en función del grado de saturación (ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados) y, en el caso de los ácidos grasos

insaturados, éstos se agruparon en función de la posición de los dobles enlaces ($\omega 3$ y $\omega 6$).

4.2.14. Determinación de los parámetros relacionados con la lipólisis

Para la determinación de los parámetros relacionados con la lipólisis se realizó una extracción de los lípidos intramusculares presentes en la cecina mediante el método de Bligh y Dyer (1959) descrito en el apartado 4.2.13. Posteriormente, para la separación de las distintas fracciones de ácidos grasos (triglicéridos, ácidos grasos libres y fosfolípidos) se procedió de acuerdo al método descrito por García-Regueiro y col. (1994).

En un tubo de vidrio, se pesaron 20 mg del extracto graso obtenido anteriormente a los que se adicionaron los patrones internos de las tres fracciones, a temperatura ambiente, en las siguientes cantidades:

- Patrón interno para la fracción de triglicéridos (F1): 0,25 ml de una solución de ácido tridecanoico en cloroformo de concentración 1 mg/ml.
- Patrón interno para la fracción de ácidos grasos libres (F2): 0,25 ml de una solución de ácido nonadecanoico en cloroformo de concentración 1,2 mg/ml.
- Patrón interno para la fracción de fosfolípidos (F3): 0,25 ml de una solución de ácido fosfopentanoico en cloroformo de concentración 1 mg/ml.

A continuación, el tubo, con la muestra y los patrones internos, se introdujo en un baño de agua a 100 °C para evaporar el disolvente, y el residuo obtenido, se resuspendió en 2 ml de cloroformo-isopropanol (2:1). La muestra así obtenida, se hizo pasar por una columna de aminopropilsilica de 500 mg (Isolute-XL, Madrid, España) previamente acondicionada con 10 ml de hexano. Seguidamente, se aplicaron los diferentes disolventes, necesarios para la separación de las tres fracciones, que se hicieron pasar a través de la columna, mediante la aplicación de vacío en la cámara, con una presión máxima de 3 pulgadas de mercurio.

Para obtener la primera fracción formada por los triglicéridos (lípidos neutros) se pasó por la columna 10 ml de cloroformo-isopropanol 2:1 tres veces, relavando el contenido de los tubos. Una vez finalizada la elución de esta fase, se retiró el matraz con la misma y se colocó uno nuevo para recoger la siguiente. La elución de los ácidos grasos libres (2ª fracción) se llevó a cabo pasando tres veces, por la

Material y métodos

columna, 10 ml de éter dietílico con ácido acético glacial al 2%. Posteriormente, se retiró el matraz que contenía esta segunda fracción y se colocó uno nuevo para recoger la siguiente. Para la elución de la última fracción, se pasaron dos veces, por la columna, 10 ml de metanol con HCl-metanol al 2% y una vez finalizada la elución de esta fase, se retiró el matraz con la misma.

El contenido de cada uno de los matraces se evaporó hasta sequedad en un rotavapor, tras lo cual, se trasvasó cada fracción, previa resuspensión con 4 ml de cloroformo, a tubos desecados y rotulados. Posteriormente, los tubos se introdujeron en baño de agua a 100 °C para evaporar el disolvente, y con el residuo obtenido, se procedió a la metilación de las fracciones así obtenidas.

Para la metilación de las fracciones grasas se utilizó el método del BF₃ de Morrison y Smith (1964) modificado. A cada una de las fracciones obtenidas se añadieron 2 ml de hidróxido NaOH 0,5N en metanol y 2 ml de BF₃ en metanol al 14%. En la fracción de los ácidos grasos libres, sólo se añadió 1 ml de cada uno. Posteriormente, los tubos se agitaron y se introdujeron en una estufa a 100 °C durante 5 min. Transcurrido este tiempo, los tubos se agitaron vigorosamente, después de lo cual, se volvieron a introducir en la estufa donde permanecieron 50 min más. Finalmente, los tubos se retiraron de la estufa y se dejaron enfriar en un desecador durante 60 min. Una vez pasado ese tiempo, en cada tubo se añadieron 2 ml de agua salina y 4 ml de hexano en los tubos de la fracción neutra, 2 ml de hexano en los de la fracción de los ácidos grasos libres y 1 ml de hexano en los de la fracción de los fosfolípidos. Durante 10 min, los tubos se agitaron a velocidad mínima y, a continuación, se dejaron reposar 30 min. Después, con objeto de separar bien las fases, se sometieron a centrifugación a 3.000 rpm durante 5 min y tras esta operación, se recogió la fase superior de la disolución, que contenía los ésteres metílicos.

Una vez obtenidos los ésteres metílicos de las distintas fracciones, se procedió a su separación y cuantificación mediante cromatografía de gases utilizando un cromatógrafo modelo 6890 de Agilent Technologies, equipado con automuestreador, sistema de inyección con división de flujo y un detector de ionización de llama (FID). La separación de los diferentes ésteres metílicos se llevó a cabo en una columna Omegawax 320 de Supelco, (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). El programa de temperaturas configurado en el horno 200 °C en régimen isoterma

durante los 60 min que duro la cromatografía. La temperatura del inyector fue de 250 °C y la temperatura del detector 260 °C. El volumen de inyección fue 0,2 µl para la fracción F1 y de 1 µl para las fracciones F2 y F3, en modo split (100:1) y con un flujo de gas portador (helio) constante a 1,3 ml/min (30 cm/s). La identificación de cada ácido graso se realizó por comparación de su tiempo de retención con respecto a los patrones internos introducidos en las fracciones. El contenido de cada ácido graso fue expresado como porcentaje del total de ácidos grasos identificados.

4.2.15. Determinación de los parámetros relacionados con la proteolisis

Los parámetros relacionados con la proteolisis que se determinaron en el presente estudio fueron: el nitrógeno no proteico, el nitrógeno aminoacídico y el nitrógeno peptídico.

4.2.15.1. Nitrógeno no proteico (NNP)

Para la determinación del NNP, se realizó una extracción previa siguiendo el método descrito por De Ketelaere y col. (1974). Cinco gramos de muestra de cecina se homogeneizaron con 50 ml de ácido perclórico 0,6N, con un homogeneizador ultraturrax modelo (IKA-Labortechnik T-25, Staufen, Alemania), durante 2 min. Este homogeneizado se centrifugó a 3500 rpm durante 5 min, recogiendo el sobrenadante mediante filtración. Esta operación se repitió de nuevo adicionando otros 50 ml de ácido perclórico 0,6N al sedimento, recogiendo el sobrenadante junto con el obtenido en la extracción anterior. Esta fracción representa todo el nitrógeno soluble, es decir, tanto el nitrógeno sarcoplasmático como el NNP.

Con objeto de separar el nitrógeno sarcoplasmático del NNP, el sobrenadante obtenido anteriormente, se neutralizó con NaOH al 30% y se enfrió hasta una temperatura de 4 °C en baño de hielo. De esta forma se obtuvo un precipitado que se eliminó por filtración con papel Whatman n° 54 y el filtrado obtenido, correspondiente al NNP, se enrasó con agua desionizada a 100 ml.

Finalmente, la cantidad de NNP se determinó según el procedimiento ISO 937 (1978) descrito en el apartado 4.2.4. Los resultados obtenidos se expresaron en mg de nitrógeno/100 g de extracto seco.

Material y métodos

4.2.15.2 .Nitrógeno aminoacídico (NA)

Para la determinación del nitrógeno aminoacídico se empleó el método descrito por Moore y Stein (1954). En un tubo de ensayo, se añadieron 1 ml del extracto correspondiente al nitrógeno soluble (obtenido de la forma que ha sido descrita en el apartado anterior), 1 ml de leucina o 1 ml de agua destilada (cuando se preparó el blanco), junto a 100 µl de ácido ascórbico y 1 ml de solución de nihidrina. Esta mezcla se homogeneizó y se taparon los tubos con papel de aluminio para introducirlos en un baño de agua a 100 °C durante 20 min. Transcurrido este tiempo, se paró la reacción sumergiendo los tubos en agua fría y adicionándoles 5 ml de agua destilada. Después de 15 min se procedió a la lectura de la absorbancia a 570 nm en un espectrofotómetro Beckman UV/Vis, modelo DU® 640, obteniéndose la cantidad de NA presente en el extracto a partir de la curva de calibrado.

Para la obtención de la curva patrón, se realizó la cuantificación del NA en soluciones patrón, previamente preparadas, que contenían 0,4, 0,8, 1,6, 2,4, 3,2, 4 y 4,6 µg leucina/ml. Un ejemplo de la curva de calibrado obtenida se muestra en la Figura 17.

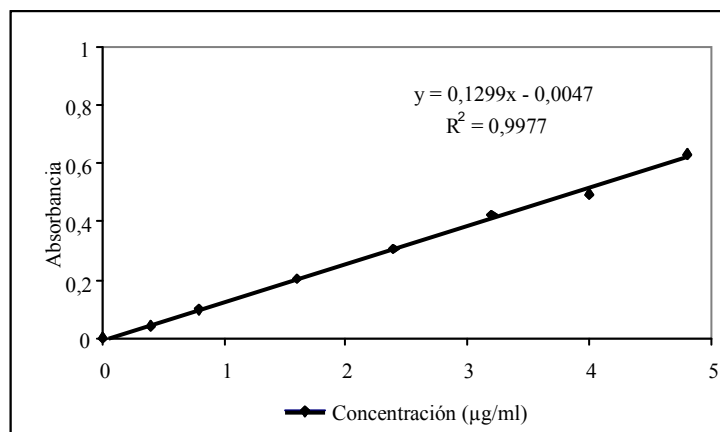


Figura 17. Curva de calibrado para el cálculo del contenido de aminoácidos libres.

El contenido de NA de la muestra, fue expresado en mg de aminoácido/100 g de extracto seco y se calculó como:

$$\text{mg aa/100 g ES} = C \times 10 / (P \times (100 - \% \text{ humedad}))$$

donde *C* es la concentración de nitrógeno aminoacídico ($\mu\text{g/ml}$) determinada sobre la curva patrón y *P* es el peso de muestra (g) de la que se ha obtenido el extracto.

4.2.15.3. Nitrógeno peptídico (NP)

Para la determinación del NP, en un tubo de ensayo se añadieron 2 ml de la muestra extraída de la forma que ha sido descrita anteriormente, junto con 5 ml de HCl 8,4M. Posteriormente, los tubos se cerraron y se hidrolizaron a 110 °C durante 24 h. Después de la hidrólisis, el contenido de los tubos se neutralizó con NaOH concentrada y se vertió en un matraz aforado donde se ajustó el contenido a 50 ml. A continuación, se operó de la forma que ha sido descrita para la determinación del NA.

Finalmente, el contenido de NP se calculó por diferencia entre la concentración de NA calculada antes de la hidrólisis de la muestra y después de la hidrólisis y se expresó como mg péptidos/100 g extracto seco.

4.2.16. Electroforesis

El método utilizado en la separación electroforética de las proteínas miofibrilares y los péptidos generados por la hidrólisis enzimática durante la maduración se basó en el sistema discontinuo descrito por Laemmli (1970). La electroforesis se realizó según los cambios introducidos por Greaser y col. (1983), basados en un aumento de la concentración del tampón del gel separador y del tampón de las cubetas, modificando la relación acrilamida/bisacrilamida tanto del gel “separador” (*resolving gel*) como del gel “apilador” (*stacking gel*).

Para la **extracción de las proteínas miofibrilares**, se utilizó el método de Muroya y col. (2006) con ligeras modificaciones. Se pesaron 2 g de muestra a los que se adicionaron 10 ml de tampón fosfato 20mM (pH=6,8) que contenía 100 mM KCl, 1mM de MgCl₂, 1mM EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) y 1mM de 2 μ -mercaptoetanol. Esta mezcla se homogenizó con un ultraturrax (IKA-Labor Technik T-25, Staufen, Alemania) 1 min y la suspensión resultante se centrifugó a 20.000 g durante 15 min., descartándose el sobrenadante. El residuo resultante, se solubilizó en 10 ml de tampón Tris-HCl 10 mM (pH=8,0) que contenía 5 mM EDTA, 1% de SDS (dodecil-sulfato de sodio) y 40 mM de ditiotreititol.

Material y métodos

La **preparación de la muestra** se realizó mezclando el extracto obtenido con un tampón de pH 6,8 que contenía 1,6 ml de 10% SDS, 1 ml de 0,5 M Tris-HCl, 0,2 ml de azul de bromofenol, 0,4 ml de 2 β -mercaptoetanol y 0,8 ml de glicerol, ajustando el contenido proteico de la muestra a 4 mg de proteína/ml. La concentración de proteína en la muestra se calculó previamente por el método descrito en el apartado 4.2.4. Finalmente, esta mezcla se colocó en un baño a 100°C durante 5 min y una vez atemperada, se procedió a su separación electroforética.

La **preparación y composición de los geles** se realizó según el método descrito por Greaser y col. (1983). Los geles se prepararon entre dos placas de cristal con una separación de 7 mm:

- 1.- Gel separador-12% acrilamida: en un matraz erlenmeyer de 250 ml se añadieron 24 ml de la solución de acrilamida 30%-bisacrilamida 0,15%, 15 ml de Tris 3M pH 8,8, 0,6 ml de SDS 10%, 20 ml de agua desionizada y 150 μ l de solución de persulfato amónico (120 mg/ml). Esta solución se desgasificó con bomba de vacío durante 10 min en agitación y posteriormente se añadieron 50 μ l de tetrametiletilendiamina (TMED). El líquido obtenido se mezcló cuidadosamente y se introdujo con una pipeta entre las dos placas de cristal. Con el fin de evitar que el gel estuviera en contacto con el aire, se añadió agua desionizada en la parte superior, se dejó reposar y tras 1 h tuvo lugar la polimerización del gel, momento en el que se retiró el agua.
- 2.- Gel separador-3% acrilamida: en un matraz erlenmeyer de 150 ml se añadieron 6 ml de la solución de acrilamida 10%-bisacrilamida 0,5%, 5 de ml Tris 0,5 M pH 6,8, 0,2 ml de SDS 10%, 8,7 ml de agua desionizada y 100 μ l de la solución de persulfato amónico (120 mg/ml). Al igual que en el caso anterior, la solución resultante se desgasificó con bomba de vacío durante 10 min en agitación, tras lo cual se añadieron 30 μ l de TMED. El líquido se mezcló cuidadosamente y se vertió con una pipeta entre las dos placas sobre el gel separador, esperando de nuevo a su polimerización.

El gel se preparó entre 12 y 24 h antes de realizar la electroforesis, conservándolo a temperatura ambiente.

La **separación electroforética** de los extractos miofibrilares obtenidos se realizó en un sistema de electroforesis vertical Protean II, (Biorad, Madrid,

España). Las placas de vidrio, con el gel en su interior, se introdujeron en la cubeta electroforética que se rellenó con 1 l de solución, 0,25 M Tris, 1,92 M glicina y 0,5% SDS, de pH 8,3.

A continuación, se tomaron 15 µl del extracto de proteínas miofibrilares y se depositaron en un tubo eppendorf, junto a 15 µl de una mezcla glicerol-azul de bromofenol y se homogeneizó. Posteriormente, se aplicaron 15 µl de las muestras así preparadas en la parte superior de los pocillos hechos en el gel. Inicialmente, hasta que las muestras salieron del gel apilador, la intensidad de la corriente fue de 30 A y posteriormente la electroforesis se realizó a una intensidad constante de 60 A. Durante la electroforesis, el voltaje se aumentó de 50 V a 350 V, dándose por finalizada cuando el azul de bromofenol llegó al final del gel. Durante toda la electroforesis la temperatura se mantuvo constante a 15°C mediante un sistema de refrigeración incorporado.

En todas las electroforesis realizadas, se añadieron 15 µl de una muestra patrón (High molecular Weight-SDS and Low-SDS calibration Kit, Pharmacia Biotech), con el fin de servir de referencia en el cálculo de los pesos moleculares. Esta muestra patrón incluía las proteínas que aparecen recogidas en la Tabla 7.

Tabla 7. Pesos moleculares de los patrones utilizados.

| Proteínas | Peso Molecular |
|-------------------------------------|-----------------------|
| Miosina | 200 kDa |
| β-galactosidasa | 116 kDa |
| Fosforilasa b | 97 kDa |
| Seroalbúmina de bovino | 66 kDa |
| Ovoalbúmina | 45 kDa |
| Anhidrasa carbónica | 31 kDa |
| Inhibidor de la tripsina de la soja | 21 kDa |
| Lisozima | 14 kDa |

Después de la electroforesis se procedió a la **tinción del gel** con Coomasie Blue R-350 (0,10 g/l), 25% etanol y 10% ácido acético dejando el gel sumergido en la misma, durante 2 h con agitación. Después, la solución de tinción se eliminó y se procedió a desteñirlo con 25% etanol, 8% ácido acético.

Material y métodos

Una vez desteñado el gel, éste se introdujo en una última solución (25% etanol, 8% ácido acético, 2% glicerina) donde se mantuvo 30 min. Transcurridos los 30 min, se sacó el gel del baño de fijación y se cubrió con papel celofán, dejándolo a temperatura ambiente hasta su secado. El análisis de las bandas proteicas en los geles se realizó con un densitómetro GS800 y el software Quantity One (Bio-Rad, Madrid, España).

4.3. ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES SENSORIALES

4.3.1. Determinación del color instrumental

Para la medida del color instrumental se utilizó un espectrofotómetro de reflectancia CM-2002 Minolta (Osaka, Japón) y se registraron los parámetros CIE, L* (luminosidad), a* (rojo-verde) y b* (amarillo- azul) (CIE, 1978).

Una vez calibrado el aparato con un blanco de calibración, y tras partir las piezas de cecina por la mitad, se analizó el color en 3 puntos en la superficie de corte, elegidos al azar de forma similar en todas las muestras. El valor de cada uno de los parámetros de color suministrados por el equipo, L*, a* y b*, se calculó como la media de las 3 medidas realizadas.

4.3.2. Determinación de la textura instrumental

En general, la medida instrumental de la textura implica el uso de pruebas mecánicas que pueden combinarse con los paneles sensoriales, ya que imitan o intentan reproducir la forma de medida de éstos, es decir, las condiciones en las que se encontrará el alimento durante el proceso de masticación. De los métodos instrumentales de medida, los métodos imitativos se fundamentan en el concepto de textura y de características de textura descritos por Szczesniak (1963). El objetivo de estos métodos es determinar el perfil de textura de un alimento, midiendo instrumentalmente distintos parámetros. Existen varios métodos que pueden clasificarse como imitativos, pero el más difundido de todos ellos es el perfil de textura instrumental o TPA.

El ensayo de TPA consiste en comprimir una muestra de alimento, normalmente cúbica, mediante dos superficies planas, dos veces sucesivas, con el fin de simular la labor que efectuaría la mandíbula humana. En este estudio, el aparato utilizado fue un texturómetro TA-XT2 (Stable Micro Systems, Haslemere, Inglaterra). El

equipo está dotado de un programa que permitió el análisis y evaluación de las curvas de TPA (Figura 18). Los parámetros del TPA (dureza, masticabilidad, elasticidad y cohesividad) se determinaron a partir de las curvas fuerza-tiempo, como recomendaron Breene (1975) y Bourne (1978).

Dureza (g): corresponde en la gráfica con la altura del primer pico. Equivale a la fuerza requerida para comprimir una sustancia entre los molares o entre la lengua y el paladar, dependiendo de la naturaleza del producto.

Cohesividad: se calcula como la relación entre las áreas por encima de la línea base de la representación fuerza-tiempo (A_2/A_1). Equivale al grado hasta el que se comprime una sustancia entre los dientes, antes de romperse.

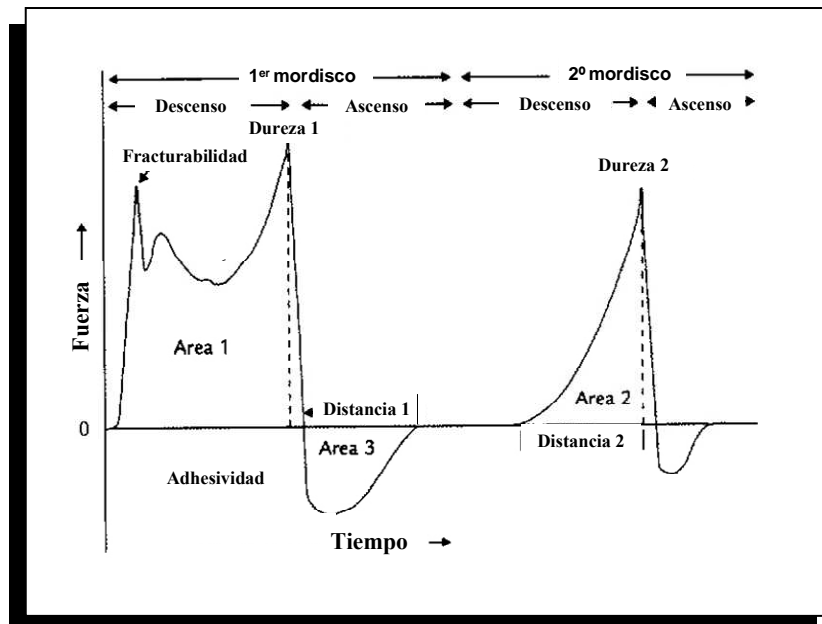


Figura 18. Curva tipo obtenida en un análisis de perfil de textura instrumental (TPA). Fuente: Bourne (1978).

Elasticidad: corresponde, en la curva fuerza-tiempo, a la distancia en la cual el alimento recupera su altura durante el tiempo que transcurre entre el final del primer mordisco y el comienzo del segundo mordisco. Se define como la relación de tiempo entre el inicio del Área 2 y el regreso de la sonda en el segundo ciclo con respecto al tiempo transcurrido entre el inicio del Área 1 y el regreso de la sonda en

Material y métodos

el primer ciclo de compresión (Distancia 1/Distancia 2). Otra forma de expresarlo sería el grado hasta el cual regresa un producto a su forma original, una vez que ha sido comprimido entre los dientes.

Masticabilidad (g): se obtiene del producto entre la dureza, la cohesividad y la elasticidad. Se corresponde con el trabajo requerido para masticar la muestra reduciéndola hasta lograr una consistencia adecuada para tragarla.

Las muestras analizadas eran 6 cubos (1 cm³) o 6 cilindros (2,5 cm de diámetro x 1 cm de alto) que se comprimieron hasta un 40% de su altura inicial (compresión del 60%), a una velocidad de 1,0 mm/s y a temperatura ambiente (Figura 19).

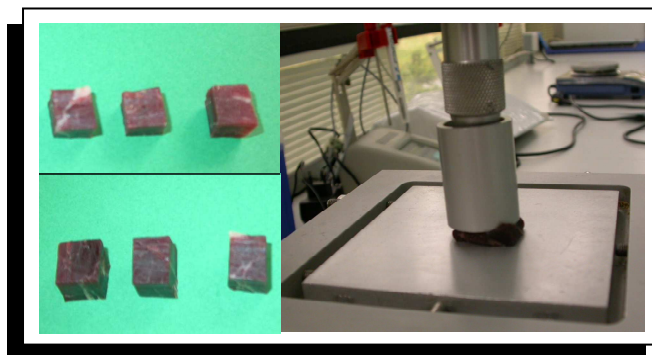


Figura 19. Análisis instrumental de textura: cubos de muestras a analizar y realización del análisis del perfil de textura.

4.3.3. Panel sensorial

El análisis sensorial de las distintas piezas de Cecina de León se llevó a cabo mediante pruebas descriptivas con panel de catadores entrenados, en todos los experimentos realizados. Además, en los experimentos 3 y 4, se consideró conveniente realizar pruebas discriminatorias (prueba triangular) y afectivas (prueba de preferencias) con consumidores.

Todas las pruebas se realizaron en la sala de catas de la Estación Tecnológica de la Carne (Figura 20), cumpliendo las condiciones básicas que deben ser tenidas en cuenta en la instalación de una sala de cata (Norma UNE 87-004; UNE, 1979):

- Área de preparación de las muestras independiente del área de evaluación.

- Cabinas individuales, siempre con las mismas condiciones de temperatura, luz y humedad.
- Cabinas con asientos confortables, altura y espacio de las mesas apropiadas para la manipulación de las muestras.
- Paredes y superficies con coloración neutra, etc.

Las pruebas se realizaron a media mañana, con luz blanca, y la sala se mantuvo a una temperatura constante de 22°C. En la cabina, los catadores disponían de una botella de agua mineral, de un vaso, de pan tostado, servilletas de papel y las hojas de cata. El pan y el agua se utilizaron para unificar las condiciones internas de la boca antes de la evaluación de cada muestra.



Figura 20. Zona de preparación de muestra y sala de catas de la Estación Tecnológica de la Carne.

4.3.3.1. Prueba sensorial descriptiva

Las pruebas sensoriales descriptivas se realizaron con un panel de 8 catadores de la Estación Tecnológica de la Carne (Guijuelo), entrenados para el análisis sensorial de carne y productos cárnicos según la Norma UNE 87-024 (UNE, 1995) y la Norma UNE 87-013 (UNE, 1996).

Entrenamiento específico para el análisis sensorial de la Cecina de León

Antes del inicio de la prueba sensorial, se llevó a cabo un entrenamiento del panel con objeto de formar a los miembros del mismo, tanto en los aspectos cualitativos y cuantitativos del método sensorial como en el producto objeto del estudio. El entrenamiento se llevó a cabo en 8 sesiones desarrolladas en 4 semanas (2 sesiones por semana). El primer paso fue familiarizar a los catadores con el producto de interés, de manera que se buscaron las características descriptivas que

Material y métodos

mejor definen a la cecina. Esto dió lugar al modelo de hoja de cata que se muestra en la Figura 21 en la que se incluyeron 12 atributos sensoriales relacionados con el aspecto visual, olor, dureza y la degustación del producto en la boca. Los parámetros sensoriales evaluados fueron:

- Homogeneidad de color: con este parámetro se evaluó si la cecina presentaba el mismo color o, si por el contrario, su color variaba desde el centro de la pieza hasta el borde.
- Intensidad de color: se evaluó si el color cereza de las cecinas era más claro u oscuro.
- Veteado: con este parámetro se evaluó la presencia de grasa intramuscular en la cecina.
- Color de la grasa: un valor alto en la escala indicó un color muy amarillo, y por el contrario, un valor bajo significó un color blanco de la grasa. La grasa tiene normalmente un color amarillento debido a los procesos oxidativos que tienen lugar durante la maduración de las piezas. Sin embargo, este fenómeno es menos importante en el interior de las piezas por lo que la grasa suele ser blanca con un ligero toque amarillo.
- Presencia de grasa intermuscular: se evaluó la presencia de grasa entre los músculos que constituyen la cecina. Un valor alto en la escala indica mucha grasa intermuscular y un valor bajo indica poca grasa intermuscular en la cecina.
- Intensidad de olor: valores altos en este parámetro indican cecinas con olor intenso y valores bajos indican cecinas con poco olor.
- Dureza: resistencia a la masticación durante el primer mordisco del producto con los molares.
- Masticabilidad: este parámetro se evaluó considerando que un valor alto en la escala significa que la muestra requiere un gran número de mordiscos para ser deglutida y un valor bajo significa que son necesarios pocos mordiscos para tragar la muestra. La masticabilidad se define como el tiempo o el número de mordiscos que se requieren para desintegrar y hacer que un sólido este listo para ser deglutido.

- Jugosidad: un valor alto en este parámetro indicaba una cantidad alta de saliva liberada durante la masticación.
- Pastosidad: con este parámetro se evaluó un defecto de textura, caracterizado por una textura excesivamente blanda y adhesiva.
- Intensidad de flavor: este parámetro se evaluó con puntuaciones altas cuando la sensación de sabor y aroma era más intensa.
- Persistencia del sabor en la boca: este parámetro indicaba el tiempo que el sabor de la cecina permanecía en la boca después de ser tragada. A mayor permanencia del sabor en la boca, mayor valor en la escala estructurada.


Prueba descriptiva de la Cecina de León

Una vez entrenado el panel de catadores se procedió al análisis descriptivo propiamente dicho. Para la realización de cada prueba descriptiva individual, se entregó a cada catador, un plato con lonchas de cecina de 1,5 mm de grosor procedente de la parte central de la pieza de cecina.


Para la evaluación sensorial se utilizó la hoja de cata anteriormente referida (Figura 21), utilizándose una escala de 5 puntos. Valores altos de intensidad de color, sabor, olor, homogeneidad del color, jugosidad, persistencia del flavor, dureza son considerados positivos, mientras que la presencia de grasa intermuscular, masticabilidad y pastosidad son atributos considerados negativos. También se incluyeron apartados en los que los catadores informaron de la presencia de colores, olores y sabores anormales.

4.3.3.2 .Prueba sensorial discriminatoria. Prueba triangular

Con objeto de conocer si existían diferencias entre las cecinas elaboradas con diferentes agentes de curado (experimento 3) y entre las cecinas con diferente tiempo de curado (experimento 4) se realizaron pruebas triangulares según la UNE 87006:1992 (UNE, 1992) con un panel de 100 consumidores. Para ello, se presentaron a cada catador 3 muestras de cecina, codificadas con un número de tres cifras, de las cuales 2 eran iguales y una era diferente. A cada catador se le pidió que identificara la muestra que era diferente. Además, para obtener una mayor información, se incluyó en la hoja de cata (Figura 22) una sección para que el catador indicara a que eran debidas las diferencias encontradas.



Junta de
Castilla y León



INSTITUTO
TECNOLÓGICO
AGRARIO
Estación Tecnológica de la Carne

ANÁLISIS SENSORIAL--PRUEBA DESCRIPTIVA--- CECINA DE LEÓN

Nombre: _____ Fecha: _____ Código: _____

1. ASPECTO VISUAL

| | | | |
|------------------------------------|--------|----------------------------|----------|
| - Homogeneidad del color | Poco | 1-----2-----3----- 4-----5 | Mucho |
| - Intensidad de color | Clara | 1-----2-----3----- 4-----5 | Oscura |
| - Presencia de veteado | Poco | 1-----2-----3----- 4-----5 | Mucho |
| - Color de la grasa | Blanca | 1-----2-----3----- 4-----5 | Amarilla |
| - Presencia de grasa intermuscular | Poca | 1-----2-----3----- 4-----5 | Mucha |

Presencia de colores anómalos _____

2. OLOR

| | | | |
|---------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|-------|
| - Intensidad | Poco | 1-----2-----3----- 4-----5 | Mucho |
| - Tipo de olor detectado: | <input type="checkbox"/> humo | <input type="checkbox"/> vaca/carne | |
| | <input type="checkbox"/> curado | <input type="checkbox"/> humedad/moho | |

Otros: _____

3. DEGUSTACIÓN EN LA BOCA

| | | | |
|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| - Dureza | Blanda | 1-----2-----3----- 4-----5 | Dura |
| - Masticabilidad | Pocos mordiscos | 1-----2-----3----- 4-----5 | Muchos mordiscos |
| - Jugosidad | Poco jugosa | 1-----2-----3----- 4-----5 | Muy jugosa |
| - Pastosidad | Poco pastosa | 1-----2-----3----- 4-----5 | Mucho |
| - Intensidad flavor | Poco | 1-----2-----3----- 4-----5 | Mucho |
| - Tipos de flavor detectado | <input type="checkbox"/> humo | <input type="checkbox"/> vaca/carne | |
| | <input type="checkbox"/> curado | <input type="checkbox"/> humedad/moho | |

Otros: _____

| | | | |
|-----------------------|------|----------------------------|-------|
| - Persistencia flavor | Poco | 1-----2-----3----- 4-----5 | Mucho |
|-----------------------|------|----------------------------|-------|

Figura 21. Hoja de cata utilizada en el análisis sensorial descriptivo.



|  |  | | | | | | |
|---|--|------------------------|--|--|--|--|--|
| Estación Tecnológica de la Carne | | | | | | | |
| ANÁLISIS SENSORIAL--PRUEBA TRIANGULAR --- CECINA DE LEÓN | | | | | | | |
| Nombre: Fecha: | | | | | | | |
| Tiene en el plato tres muestras de cecina que debe de probar de izquierda a derecha. Dos de las muestras son iguales y una de ellas diferente. | | | | | | | |
| Anote los códigos de las muestras en el orden correcto (de izquierda a derecha) y luego marque con un círculo el código de la muestra que considere diferente. Indique por qué cree usted, que la muestra es diferente. | | | | | | | |
| Nº DE PLATO: _____ | | | | | | | |
| <table border="1"><thead><tr><th colspan="3">CÓDIGO DE LAS MUESTRAS</th></tr></thead><tbody><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></tbody></table> | | CÓDIGO DE LAS MUESTRAS | | | | | |
| CÓDIGO DE LAS MUESTRAS | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| ¿POR QUÉ? _____ | | | | | | | |
| _____ | | | | | | | |

Figura 22. Hoja de cata utilizada en la prueba triangular.

4.3.3.3. Prueba sensorial afectiva. Prueba de preferencias

Con objeto de conocer si los consumidores preferían alguna de las cecinas elaboradas con diferentes agentes de curado (experimento 3) o si los consumidores preferían alguna de las cecinas con diferente tiempo de curado (experimento 4) se realizaron pruebas de preferencias según la UNE 87023:1995 (UNE, 1995) con un panel de 100 consumidores. Para ello, se presentaron a cada catador 3 muestras de cecina diferentes, codificadas con un número de tres cifras. A cada catador se le pidió que puntuara las muestras con valores de 1, 2 ó 3, asignando a la muestra que prefería el valor de 1 y la muestra que menos prefería el valor de 3. Además, en la hoja de cata (Figura 23), se incluyó una sección para que el catador indicara a que eran debidas las preferencias.



| | | |
|---|--|-----|
|  Junta de Castilla y León |  ita INSTITUTO TECNOLÓGICO AGRARIO Estación Tecnológica de la Carne | |
| ANÁLISIS SENSORIAL--PRUEBA DE PREFERENCIA--- CECINA DE LEÓN | | |
| Nombre: Fecha: | | |
| Tiene en el plato tres muestras de cecina diferentes que debe probar de izquierda a derecha. | | |
| Puntúe con un 3 la muestra que más le guste, con un 1 la que menos le guste y con un 2 la intermedia | | |
| Nº DE PLATO: _____ | | |
| 925 | 731 | 029 |
| | | |
| 1. Indique las razones por las que ha elegido la muestra que más le ha gustado: | | |
| | | |
| | | |
| 2. Indique las razones por las que ha elegido la muestra que menos le ha gustado: | | |
| | | |
| | | |

Figura 23. Hoja de cata utilizada en la prueba de preferencia.

4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A partir de los resultados obtenidos, el análisis estadístico realizado fue el siguiente:

En el estudio de la **caracterización de la Cecina de León**, se realizó un análisis de la varianza de una vía (ANOVA) con objeto de determinar la existencia o no de diferencias en las características físico-químicas y sensoriales entre las diferentes

piezas de Cecina de León estudiadas (babilla, tapa y contra). En aquellos casos en que existían diferencias significativas se utilizó el test de Tukey HSD (Honest Significant Difference) para la separación de las medias de los grupos. En este caso, el análisis estadístico se completó mediante el estudio de correlaciones y el análisis de componentes principales (PCA) con la finalidad de facilitar la interpretación de los resultados. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con un nivel de confianza del 95% y se utilizó el programa Statgraphics Plus 5.1.

En el estudio de la **influencia del peso y del tratamiento de la materia prima** y en concreto en el **experimento 1** se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) en el que los factores considerados fueron el peso de las piezas, el tratamiento de la materia prima y la interacción entre ellos. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con un nivel de confianza del 95% y se utilizó el programa Statgraphics Plus 5.1.

En el **experimento 2**, se realizó un análisis de la varianza de una vía (ANOVA) con objeto de determinar la existencia o no de diferencias a lo largo del tiempo de elaboración para cada lote y entre los distintos métodos de preservación de la materia prima (refrigeración o congelación) en cada punto de muestreo. En aquellos casos en que existían diferencias significativas, se utilizó el test de Tukey HSD (Honest Significant Difference) para la separación de las medias de los grupos de tratamientos y todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con un nivel de confianza del 95% y se utilizó el programa STATISTICA 6.0.

En el **estudio de la influencia de la adición de agentes de curado** se realizó un análisis de la varianza de una vía (ANOVA) con objeto de determinar la existencia o no de diferencias a lo largo del tiempo de elaboración para cada lote y entre los distintos lotes (con sal, con sal y nitrato y, con sal, nitrato y nitrito) en cada punto de muestreo. En aquellos casos en que existían diferencias significativas, se utilizó el test de Tukey HSD (Honest Significant Difference) para la separación de las medias de los grupos de tratamientos. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con un nivel de confianza del 95% y se utilizó el programa STATISTICA 6.0.

En el **estudio de la influencia del tiempo de curado**, se realizó un análisis de la varianza de una vía (ANOVA) con objeto de determinar la existencia o no de diferencias en las características de la Cecina de León debidas al tiempo de curado.

Material y métodos

En aquellos casos en que existían diferencias significativas, se utilizó el test de Tukey HSD (Honest Significant Difference) para la separación de las medias de los grupos de tratamiento. En este caso, el análisis estadístico se completó mediante el estudio de correlaciones y el análisis de componentes principales (PCA) con la finalidad de facilitar la interpretación de los resultados. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con un nivel de confianza del 95% y se utilizó el programa Statgraphics Plus 5.1.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. CARACTERIZACIÓN DE LA CECINA DE LEÓN

La primera etapa de la Tesis consistió en la caracterización de los distintos tipos de Cecina de León que se encuentran mayoritariamente en el mercado, babilla, tapa y contra. Se estudió la influencia de estos tres cortes anatómicos sobre las características físico-químicas y sensoriales de la Cecina de León. Para ello, se analizaron 9 babillas, 9 tapas y 9 contras, proporcionadas por la IGP Cecina de León.

1.1. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS

La Tabla 8 muestra los valores medios y desviación estándar del **pH** y de la **a_w** de los tres tipos de cecina estudiados.

Tabla 8. Valores de pH y a_w (media ± desviación estándar) en cada uno de los tipos de cecina estudiados.

| | <i>Babilla</i> | <i>Tapa</i> | <i>Contra</i> |
|----------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| pH | ^a 5,9±0,3 | ^a 5,8±0,1 | ^a 5,9±0,1 |
| a_w | ^a 0,893±0,02 | ^a 0,903±0,01 | ^a 0,882±0,02 |

^a Medias con diferentes superíndices indican diferencias significativas entre los tres tipos de cecina analizados (Test de Tukey, p<0,05).

En relación al pH, puede observarse que los valores obtenidos para cada uno de los lotes analizados oscilaron entre 5,8 y 5,9. Otros autores han obtenido resultados similares para este tipo de cecina (Gutiérrez y col., 1988; Rubio y col., 2006 y 2007), así como en otros productos cárnicos curados elaborados a partir de carne de vacuno (Paleari y col., 2000; Lara y col., 2003). Estos valores de pH son característicos de los productos cárnicos curados, en los que la actividad proteolítica desarrollada durante el proceso de elaboración da lugar a un aumento de los niveles de nitrógeno no proteico, péptidos y aminoácidos, lo que implica una cierta alcalinización del producto. Así, estudios realizados en diversos productos cárnicos curados muestran valores de pH comprendidos entre 5,8-6,3 (Córdoba, 1990; Gil y col., 1999, Fanco y col., 2002).

Resultados y discusión

Por otro lado, el análisis estadístico de los resultados obtenidos indica que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre las muestras procedentes de babilla, tapa y contra (Tabla 8).

Los valores de a_w oscilaron entre 0,882-0,903; dichos resultados son similares a los obtenidos por otros autores en diversos productos cárnicos curados: cecina (0,834-0,877) (García y col., 1997; Gutiérrez y col., 1988, Rubio y col., 2006 y 2007), jamón ibérico (0,820-0,860) (Córdoba, 1990), embutidos crudos-curados (0,920-0,860) (Fanco y col., 2002).

La a_w es un índice de seguridad microbiológica del alimento, ya que representa el agua que puede ser utilizada por los microorganismos, por lo que, cuanto menor sea el valor de la a_w menor será el riesgo de crecimiento microbiano. Este parámetro está relacionado tanto con el contenido acuoso de la pieza como con los niveles de sal en el músculo, de modo que cuanto mayor sea la relación sal/humedad, menor será el valor de dicha a_w . En el caso de la cecina, al igual que en otros productos cárnicos curados, durante el proceso de elaboración se produce una pérdida continua de agua desde el interior al exterior de la pieza a la vez que la sal difunde hacia el interior, lo que hace que al final del curado, los valores de a_w sean tales que se asegura la estabilidad microbiológica del producto. Así, los resultados obtenidos en los tres tipos de cecina estudiados (Tabla 8) confirman que la cecina es un producto perteneciente a los denominados “alimentos de humedad intermedia”, que debe su estabilidad y larga conservación principalmente a su baja a_w (entre 0,600 y 0,900). Por último, indicar que, en la a_w no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tres tipos de cecina estudiados.

De acuerdo con la clasificación de la estabilidad de los productos cárnicos realizada por Leistner y Rodel (1976) y teniendo en cuenta los resultados de pH y a_w obtenidos, se puede decir que la Cecina de León es un producto cárnico estable (“auto-estable”) que no necesita almacenamiento en refrigeración. Esta estabilidad está referida a la alteración de tipo microbiano, siempre y cuando la pieza se mantenga íntegra.

La Tabla 9 muestra los valores del contenido de humedad, proteína, grasa, cenizas, azúcares, hidroxiprolina, NaCl, nitritos y minerales.

Resultados y discusión

Respecto al contenido en **humedad**, los resultados mostraron un menor contenido de humedad ($p < 0,05$) para las babillas. Este resultado puede ser atribuido a que la babilla es la pieza de menor tamaño, de manera que a igual tiempo de secado, la pérdida de agua es mayor en relación a las otras dos piezas estudiadas. García y col. (1997) también obtuvieron un menor contenido de humedad en babillas (32,09%). Por otro lado, los valores medios de humedad para las tapas y contras fueron similares a los obtenidos por otros autores en estas piezas (Gutiérrez y col., 1988; García y col., 1997; Hierro y col., 2004).

Tabla 9. Composición química (media \pm desviación estándar) en cada uno de los tipos de cecina estudiados.

| | <i>Babilla</i> | <i>Tapa</i> | <i>Contra</i> |
|------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Humedad (%) | ^a 52,36 \pm 3,84 | ^b 56,02 \pm 2,01 | ^b 56,86 \pm 3,15 |
| Proteína (% ES) | ^b 72,80 \pm 7,81 | ^b 70,79 \pm 3,56 | ^a 60,01 \pm 8,37 |
| Grasa (% ES) | ^a 13,17 \pm 3,05 | ^a 12,55 \pm 3,01 | ^b 28,90 \pm 8,79 |
| Cenizas (% ES) | ^b 14,79 \pm 1,26 | ^b 16,61 \pm 1,50 | ^a 12,25 \pm 1,50 |
| Azúcares (% ES) | ^b 0,53 \pm 0,31 | ^b 0,92 \pm 0,15 | ^a 0,13 \pm 0,05 |
| Hidroxiprolina (% ES) | ^a 0,45 \pm 0,07 | ^a 0,39 \pm 0,07 | ^b 0,65 \pm 0,24 |
| NaCl (% ES) | ^a 8,61 \pm 1,66 | ^b 12,92 \pm 1,15 | ^a 9,57 \pm 0,90 |
| Nitrito (ppm ES) | ND | ND | ND |
| Na (mg/100 g ES) | ^a 3964,19 \pm 489,36 | ^b 5121,63 \pm 585,39 | ^a 3583,77 \pm 427,24 |
| K (mg/100 g ES) | ^b 1381,11 \pm 175,53 | ^b 1282,04 \pm 168,83 | ^a 997,33 \pm 196,44 |
| Ca (mg/100 g ES) | ^b 77,11 \pm 59,18 | ^a 21,69 \pm 7,59 | ^a 23,09 \pm 6,05 |
| Zn (mg/100 g ES) | ^b 18,62 \pm 1,61 | ^a 13,32 \pm 2,91 | ^a 11,38 \pm 1,30 |
| Fe (mg/100 g ES) | ^c 11,22 \pm 1,83 | ^b 9,25 \pm 1,32 | ^a 4,60 \pm 1,05 |
| Cu (mg/100 g ES) | ^a 0,31 \pm 0,08 | ^a 0,24 \pm 0,13 | ND |

^{a,b,c} Medias con diferentes superíndices en la misma fila indican diferencias significativas entre los tres tipos de cecina (Test de Tukey, $p < 0,05$).

ND: no detectado.

Desde un punto de vista general, en relación a la composición química proximal, los resultados obtenidos (Tabla 9) indicaron que la Cecina de León presentó un alto contenido proteico y un bajo contenido graso, además de un alto contenido en minerales, principalmente en Zn y Fe, que son importantes

Resultados y discusión

desde el punto de vista nutricional. Los resultados obtenidos fueron similares a los encontrados por Gutiérrez y col. (1988) y Hierro y col. (2004) en cecina y a los resultados obtenidos en otros productos cárnicos por Paleari y col. (2003) y Paleari y col. (2000) en “bresaola” y por Lara y col. (2003) en “charqui”.

La contra fue la que presentó las principales diferencias por su elevado contenido graso ($p < 0,05$) y su bajo contenido en proteínas, azúcares y cenizas ($p < 0,05$). El **contenido graso** de esta pieza se debe a que es un corte anatómico formado por músculos con un elevado porcentaje de fibras rojas. Distintos estudios sobre la composición muscular, han señalado que estas fibras rojas presentes en los músculos que constituyen la contra (*M. gluteobiceps* y *semitendinosus*) poseen un elevado contenido graso (Hunt, 1977; Essen-Gustavsson y Jense-Waem, 1993). Entre la babilla y la tapa no se detectaron diferencias ($p > 0,05$) en el contenido graso, y aunque no hay datos del contenido graso en babilla, sí se encontraron valores de dicho contenido en tapa (9,9%) (Gutiérrez y col., 1988) similares a los obtenidos en nuestro estudio.

Los valores de **proteína** fueron menores en la contra, lo que podría ser explicado por el elevado contenido graso de esta pieza (28,9%). El estudio estadístico de los datos (Tabla 9) confirmó la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) en el contenido proteico entre la contra y las otras dos piezas. Los valores de proteína encontrados son similares a los indicados por otros autores (75,1%) (Gutiérrez y col., 1988).

En relación a las **cenizas**, aproximadamente un 15% en materia seca de la composición química proximal de las muestras de cecina analizadas eran cenizas. Las cenizas están constituidas por el residuo inorgánico que queda después de la combustión de la materia orgánica. Los valores obtenidos para las cenizas, en las piezas analizadas, son algo menores que los encontrados por Gutiérrez y col. (1988) para cecina (19,9%). El análisis estadístico de los resultados muestra diferencias ($p < 0,05$) en el contenido de cenizas, entre la contra y los otros dos tipos de cecina evaluados (Tabla 9).

Los resultados obtenidos en el contenido en **azúcares totales** (Tabla 9), fueron 0,53% para la babilla, 0,92% para la tapa y 0,13% para la contra, siendo esta pieza la que presentó el menor contenido ($p < 0,05$). Estos porcentajes de azúcar son normales, ya que la cantidad de azúcares presentes en la carne de

vacuno, al igual que en la carne de cerdo, es muy baja (Antequera y Martín, 2001).

Los valores de **hidroxiprolina** en las muestras estudiadas fueron 0,45% en el caso de la babilla, 0,40% en la tapa y 0,65% en la contra. La contra presentó un mayor contenido en hidroxiprolina ($p < 0,05$). Valores similares han sido encontrados por otros autores en cecina (Gutiérrez y col., 1988) y en otros embutidos cárnicos curados (0,4-1,1%) (Lorenzo y col., 2003). Varios autores (Pedersen y col., 1996; Von Seggern y col., 2005) indicaron que los músculos *Semitendinosus* y *Biceps femoris*, que son los que constituyen la contra, presentan un mayor contenido en hidroxiprolina. La hidroxiprolina es un parámetro que aporta información sobre la dureza de la pieza (Rodríguez-Lázaro y col., 2002) debido a que indica la cantidad de colágeno y, por lo tanto, de tejido conjuntivo (Ouali, 1991).

Respecto al contenido de **cloruros** (Tabla 9), los valores medios obtenidos oscilaron entre el 8,6%, en las muestras de babilla, y el 12,9%, en las muestras de tapa, con un valor intermedio para las muestras de contra. Estudios realizados por otros autores en cecina muestran porcentajes de 10,2%, 15,0% y 8,4% para la babilla, tapa y contra, respectivamente (García y col., 1997; Gutiérrez y col., 1988). Estos resultados, algo superiores en el caso de la babilla y de la tapa, y menores en el caso de la contra, pueden ser atribuidos a la utilización de distintos tiempos de procesado. En otros productos cárnicos curados como el jamón de cerdo blanco, el porcentaje de cloruros oscila entre 10-12% (Arnau y col., 1997), mientras que en el jamón ibérico el contenido en cloruros es menor (6,0%) debido a que presenta un mayor porcentaje de grasa tanto intramuscular como intermuscular, lo que dificulta los procesos de captación y difusión de la sal (Martín y col., 1998). El análisis estadístico de los datos obtenidos mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) en el contenido de cloruros entre las muestras procedentes de babilla y contra, y las muestras procedentes de tapa, siendo mayores ($p < 0,05$) los valores encontrados en la tapa, posiblemente debido a su menor espesor comparado con las otras dos piezas, lo que favorece la penetración de la sal.

En las cecinas estudiadas no se detectaron **nitritos** (Tabla 9), lo cual es lógico si se tiene en cuenta que este producto es sometido a un proceso de larga curación. El nitrito es altamente reactivo al pH que presenta la carne (5,5-

Resultados y discusión

6,5) (Marco y col., 2006; Sebranek y Fox, 1985), transformándose rápidamente en otros compuestos intermedios (N_2O_3 , NOCl, HNO_2) los cuales generan, a su vez, una amplia variedad de compuestos tales como el óxido nítrico, el ácido nitroso y el nitrato (Honikel, 2004).

Por otro lado, respecto al contenido de **minerales** se encontraron variaciones importantes entre los tres tipos de cecina. Hay que destacar que la Cecina de León y, principalmente la babilla, presentó un alto contenido ($p < 0,05$) en Ca, K y Zn, minerales que son necesarios en la dieta diaria como se pone de manifiesto en las tablas nutricionales (Muñoz de Chavez y Ledesma, 2002). Las diferencias detectadas pueden deberse a diferencias en la alimentación de los animales de los que procedían las piezas de cecina, ya que la alimentación es uno de los factores que puede afectar a la composición de minerales (Klont y col., 1998). No se han encontrado en la bibliografía valores de minerales para la Cecina de León.

En la Tabla 10 se indican los porcentajes medios y la desviación estándar de cada ácido graso para cada uno de los tipos de cecina estudiados, de los **ácidos grasos** agrupados en función de las insaturaciones (ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados), la relación ácidos grasos insaturados y saturados, la relación poliinsaturados y saturados, el porcentaje de ácidos grasos ω_6 y ω_3 , así como la relación entre ambos.

Los resultados obtenidos muestran diferencias en el perfil de ácidos de grasos en la cecina obtenida a partir de distintas piezas. Más de un 40% del total de ácidos grasos lo constituyen **ácidos grasos saturados**. Concretamente, el contenido de este tipo de ácidos grasos se situó entre el 41,81% para la contra y el 48,42% para la babilla, encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tres grupos de cecina estudiados. Desde el punto de vista nutricional, es importante indicar que la ingestión de elevadas cantidades de ácidos grasos saturados, aumenta la concentración de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en el plasma sanguíneo y, que tasas elevadas de LDL-colesterol están altamente correlacionadas con el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (Antequera y col., 2001). Por ello, existe cierto rechazo al consumo de carne y productos cárnicos, ya que se estima que más de la mitad de los ácidos grasos saturados que se ingieren en los países industrializados se obtienen a partir de

Resultados y discusión

los alimentos de origen animal, entre los que ocupa un lugar destacado la carne y los productos derivados.

Tabla 10. Valores medios \pm desviación estándar del contenido de ácidos grasos (% sobre el total de ácidos grasos identificados) en cada uno de los tipos de cecina estudiados.

| Ácidos grasos | Babilla | Tapa | Contra |
|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| <i>C</i> _{14:0} | ^{ab} 2,54 \pm 0,64 | ^a 2,13 \pm 0,21 | ^b 2,60 \pm 0,31 |
| <i>C</i> _{14:1} | ^a 0,60 \pm 0,14 | ^a 0,53 \pm 0,16 | ^b 1,05 \pm 0,22 |
| <i>C</i> _{15:0} | ^b 0,48 \pm 0,07 | ^a 0,36 \pm 0,08 | ^a 0,34 \pm 0,10 |
| <i>C</i> _{16:0} | ^a 27,88 \pm 2,81 | ^a 28,21 \pm 1,22 | ^a 26,45 \pm 0,97 |
| <i>C</i> _{16:1} | ND | ^b 3,98 \pm 1,01 | ^b 3,66 \pm 2,59 |
| <i>C</i> _{17:0} | ^b 1,12 \pm 0,19 | ^a 0,80 \pm 0,12 | ^a 0,73 \pm 0,31 |
| <i>C</i> _{18:0} | ^b 16,40 \pm 3,02 | ^a 13,31 \pm 2,56 | ^a 11,67 \pm 1,23 |
| <i>C</i> _{18:1} | ^a 43,88 \pm 2,92 | ^b 46,76 \pm 2,79 | ^b 48,95 \pm 2,91 |
| <i>C</i> _{18:2n6} | ^b 4,76 \pm 1,40 | ^a 2,76 \pm 0,74 | ^a 3,00 \pm 0,76 |
| <i>C</i> _{18:3n4} | ^b 0,18 \pm 0,04 | ^a 0,07 \pm 0,02 | ND |
| <i>C</i> _{18:3n3} | ^b 1,00 \pm 0,71 | ^a 0,27 \pm 0,10 | ^a 0,44 \pm 0,17 |
| <i>C</i> _{20:1n9} | ^b 0,40 \pm 0,30 | ^b 0,37 \pm 0,07 | ^a 0,20 \pm 0,09 |
| <i>C</i> _{20:4n6} | ND | ^a 0,43 \pm 0,21 | ^a 0,58 \pm 0,16 |
| <i>C</i> _{20:5n3} | ^b 0,44 \pm 0,38 | ^a 0,12 \pm 0,07 | ^a 0,09 \pm 0,05 |
| <i>C</i> _{22:5n3} | ^b 0,66 \pm 0,50 | ^a 0,12 \pm 0,02 | ^a 0,21 \pm 0,10 |
| SFA | ^c 48,42 \pm 2,49 | ^b 44,65 \pm 3,33 | ^a 41,81 \pm 2,29 |
| MUFA | ^a 44,62 \pm 3,16 | ^b 51,59 \pm 3,92 | ^b 53,87 \pm 2,55 |
| PUFA | ^b 6,96 \pm 2,73 | ^a 3,75 \pm 0,95 | ^a 4,32 \pm 1,07 |
| MUFA+PUFA/ SFA | ^a 1,07 \pm 0,10 | ^b 1,25 \pm 0,17 | ^c 1,40 \pm 0,14 |
| PUFA /SFA | ^b 0,14 \pm 0,06 | ^a 0,08 \pm 0,02 | ^a 0,10 \pm 0,03 |
| ω_6 | ^b 4,77 \pm 1,39 | ^a 3,26 \pm 0,93 | ^a 3,58 \pm 0,88 |
| ω_3 | ^b 2,06 \pm 1,58 | ^a 0,49 \pm 0,17 | ^a 0,74 \pm 0,32 |
| ω_6/ω_3 | ^a 3,54 \pm 2,07 | ^b 7,33 \pm 2,80 | ^{ab} 5,51 \pm 2,06 |

^{a,b,c} Medias con diferentes superíndices indican diferencias significativas entre los tres tipos de cecina analizados (Test de Tukey, $p < 0,05$).

ND: no detectado.

Resultados y discusión

Entre los ácidos grasos saturados mayoritarios de la carne de vaca, el efecto hipercolesterolémico del ácido mirístico (C14:0) parece ser muy marcado, menos que el del ácido palmítico (C16:0) y que el ácido esteárico (C18:0). Las muestras de babilla, tapa y contra analizadas contenían 2,13-2,60 % de ácido mirístico, 26,45-28,21% de ácido palmítico y 11,67-16,40% de ácido esteárico.

Respecto a los **ácidos grasos monoinsaturados** es importante destacar el contenido de ácido oleico (C_{18:1}) que junto el ácido palmitoleico (C_{16:1}) representan entre un 43-50 % del total de los ácidos grasos. Mattson y Grundy (1985) señalaron que los ácidos grasos monoinsaturados son tan efectivos como los ácidos grasos poliinsaturados en la disminución de los niveles de colesterol, con la ventaja de que el ácido oleico no reduce los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) como lo hacen los ácidos poliinsaturados, sino que disminuyen exclusivamente el nivel de colesterol vehiculizado por el LDL (García y col., 1999). En las cecinas evaluadas, la babilla fue la que mostró un menor ($p < 0,05$) contenido en ácido oleico y, por tanto un menor ($p < 0,05$) contenido en ácidos grasos monoinsaturados.

Los niveles de **ácidos grasos poliinsaturados** en las muestras analizadas representaron el 4-7% del total de los ácidos grasos, siendo más altos ($p < 0,05$) en la babilla, y no encontrándose diferencias ($p > 0,05$) entre la tapa y la contra. Es conocido que la ingestión de ácidos grasos poliinsaturados disminuye los niveles de LDL-colesterol en el plasma y reduce las tasas de HLD-colesterol, habiéndose demostrado que este último complejo presenta una relación inversa con la incidencia de enfermedades cardiovasculares (Antequera y col., 2001).

Son escasos los datos encontrados en bibliografía sobre el perfil de ácidos grasos en Cecina de León pero los resultados obtenidos en este estudio son similares a otros productos cárnicos como la “bresaola” (Paleari y col., 2003).

La **relación entre ácidos grasos poliinsaturados y saturados** fue significamente mayor ($p < 0,05$) en la babilla, debido a su mayor contenido de ácidos grasos poliinsaturados, y fue similar ($p > 0,05$) entre la tapa y la contra. Los valores obtenidos para esta relación fueron inferiores a las recomendaciones nutricionales ($> 0,4$) (Departamento de Salud de Reino Unido, 1994). No obstante, es importante indicar que dichas recomendaciones son para el total de la ingesta diaria y no para alimentos individuales.

Otro aspecto importante de los ácidos grasos poliinsaturados relacionado con la salud es el tipo de ácido graso. Existen dos familias importantes de **ácidos grasos poliinsaturados: ω_3 y ω_6** , siendo los más representativos el ácido linolénico ($C_{18:3}$) y el ácido linoleico ($C_{18:2}$) (Fernández y col., 2007). Tan importante como la concentración de estas familias de ácidos grasos es la relación entre ellas, ya que aunque ambos tipos de ácidos grasos siguen reacciones metabólicas similares, dan lugar a compuestos finales que tienen funciones diferentes. Los ácidos grasos ω_3 provocan vasodilatación e inhibición de la agregación plaquetaria, mientras que los ácidos grasos ω_6 generan compuestos eicosanoides, que en altas concentraciones se han asociado con diversos estados patológicos, como trombosis, inflamaciones, etc. (López-Bote, 1992). Por ello, es importante establecer una relación ω_6/ω_3 adecuada, aconsejándose una ingesta de ácidos grasos en la que esta relación sea <4 (Enser, 2001; Warriss, 2000).

En las piezas de cecina estudiadas, entre los valores obtenidos para los ácidos grasos poliinsaturados ω_6 , destaca el contenido de ácido linoleico ($C_{18:2n6}$) (4,76% en la babilla, 2,76% en la tapa y 3,0% en la contra). El contenido de este ácido graso fue mayor ($p<0,05$) en la babilla que en las otras dos piezas. Entre los ácidos ω_3 , el contenido del ácido linolénico ($C_{18:3n3}$) fue más alto ($p<0,05$) en la babilla y no se encontraron diferencias ($p>0,05$) entre las otras dos piezas. Por último, la relación entre ácidos grasos ω_6 y ácidos grasos ω_3 osciló entre 3,54, en la babilla, y 7,33, en la tapa. Estos valores son normales en la grasa de vacuno.

1.2. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES

La Tabla 11 muestra los resultados del análisis instrumental del color referentes a la luminosidad (L^*), al índice de rojo (a^*) y al índice de amarillo (b^*) y los parámetros de textura para las muestras de babilla, tapa y contra.

El análisis estadístico de los datos muestra que no existen diferencias ($p>0,05$) en el valor **luminosidad (L^*)** entre los tres tipos de cecina analizados. Los valores de L^* son similares a los encontrados por Rubio y col. (2007) en cecina.

Resultados y discusión

Tabla 11. Valores (media \pm desviación estándar) obtenidos en la evaluación del color y en los parámetros de textura en cada uno de los tipos de cecina estudiados.

| | <i>Babilla</i> | <i>Tapa</i> | <i>Contra</i> |
|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| Color | | | |
| L* (luminosidad) | ^a 30,04 \pm 2,15 | ^a 29,29 \pm 1,77 | ^a 31,66 \pm 2,63 |
| a* (rojo) | ^a 7,80 \pm 2,51 | ^b 11,55 \pm 3,04 | ^b 9,98 \pm 2,30 |
| b* (amarillo) | ^a 1,91 \pm 1,43 | ^b 5,73 \pm 2,42 | ^b 5,80 \pm 1,98 |
| Textura | | | |
| Dureza (g) | ^a 2401,53 \pm 476,58 | ^a 2289,60 \pm 658,45 | ^b 5437,74 \pm 2941,95 |
| Masticabilidad (g) | ^a 409,82 \pm 121,08 | ^a 489,85 \pm 197,38 | ^b 1479,03 \pm 1061,59 |
| Cohesividad | ^a 0,41 \pm 0,04 | ^a 0,45 \pm 0,05 | ^a 0,53 \pm 0,10 |
| Elasticidad | ^a 0,41 \pm 0,03 | ^a 0,46 \pm 0,03 | ^a 0,46 \pm 0,04 |

^{a,b} Medias con diferentes superíndices indican diferencias significativas entre los tres tipos de cecina analizados (Test de Tukey, $p < 0,05$).

En lo referente a los valores del **índice de rojo (a*)** y del **índice de amarillo (b*)** se encontraron diferencias entre la babilla con respecto a la tapa y la contra. Se observó que los parámetros a* y b* mostraron valores más bajos ($p < 0,05$) en la babilla. Esto podría ser debido al menor contenido en humedad ($p < 0,05$) que presentó esta pieza (Tabla 9). Algunos autores han encontrado una relación entre la humedad y los parámetros de color (Forcen y col., 1993). De hecho, en este estudio, se ha observado una correlación significativa ($p < 0,05$) entre el contenido de humedad y los parámetros a* ($r = 0,60$) y b* ($r = 0,55$) en la cecina.

En relación a la textura, en las muestras estudiadas se observa una gran variabilidad en la **dureza**, siendo los valores para este parámetro superiores ($p < 0,05$) en la contra. Este mayor valor se podría deber al mayor ($p < 0,05$) contenido en hidroxiprolina (Tabla 9). Así, estudios realizados por Caine y col. (2003) han puesto de manifiesto la existencia de una relación entre el contenido en hidroxiprolina y este parámetro. De modo similar, en este trabajo se ha observado una correlación positiva entre el contenido en hidroxiprolina y la dureza ($r = 0,49$, $p < 0,05$).

En relación a la **elasticidad y la cohesividad**, los resultados muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los tres tipos de cecina estudiados. La elasticidad del músculo está directamente

relacionada con la estructura muscular de la fracción miofibrilar y la forma en que se encuentran las fibras de actina y miosina. El valor de la cohesividad representa la unión entre partículas y determina la integridad de la estructura del músculo.

Por último, en relación a la **masticabilidad** los valores obtenidos para este parámetro fueron mayores ($p < 0,05$) en la contra. Este parámetro de textura es el resultado de considerar conjuntamente la dureza, la cohesividad y la elasticidad de un alimento. Dado que fue la contra la que presentó una mayor dureza y en la elasticidad y cohesividad de las piezas estudiadas no hubo diferencias ($p > 0,05$), cabía esperar valores de masticabilidad superiores para la contra.

Finalmente, la Tabla 12 muestra los resultados obtenidos en el **análisis sensorial descriptivo** para cada uno de los tipos de cecina estudiados.

Tabla 12. Puntuaciones obtenidas (media \pm desviación estándar) en el análisis sensorial descriptivo en cada uno de los tipos de cecina estudiados (1-intensidad mínima, 5-intensidad máxima).

| | <i>Babilla</i> | <i>Tapa</i> | <i>Contra</i> |
|--------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Homogeneidad del color | ^a 3,7 \pm 0,2 | ^a 3,6 \pm 0,4 | ^a 3,4 \pm 0,9 |
| Intensidad del color | ^a 3,5 \pm 0,5 | ^a 3,5 \pm 0,4 | ^a 3,8 \pm 0,5 |
| Presencia de vetado | ^a 2,9 \pm 0,4 | ^a 2,9 \pm 0,8 | ^a 2,5 \pm 1,3 |
| Color de la grasa | ^a 1,3 \pm 0,4 | ^b 1,8 \pm 0,2 | ^a 1,3 \pm 0,4 |
| Grasa intermuscular | ^a 3,0 \pm 0,5 | ^a 2,2 \pm 0,4 | ^b 3,7 \pm 1,2 |
| Intensidad de olor | ^a 3,0 \pm 0,3 | ^a 3,0 \pm 0,3 | ^a 3,1 \pm 0,6 |
| Dureza | ^a 2,4 \pm 0,8 | ^a 2,3 \pm 0,5 | ^b 3,0 \pm 0,9 |
| Masticabilidad | ^a 2,0 \pm 0,3 | ^a 2,1 \pm 0,3 | ^b 3,5 \pm 0,5 |
| Jugosidad | ^a 3,1 \pm 0,2 | ^a 3,5 \pm 0,4 | ^a 2,8 \pm 0,4 |
| Pastosidad | ^a 1,2 \pm 0,1 | ^a 1,2 \pm 0,1 | ^b 2,4 \pm 0,4 |
| Intensidad de flavor | ^a 3,0 \pm 0,4 | ^a 3,1 \pm 0,3 | ^a 3,1 \pm 0,6 |
| Persistencia del flavor | ^b 3,8 \pm 0,1 | ^a 2,6 \pm 0,5 | ^b 3,1 \pm 0,4 |

^{a, b} Medias con diferentes superíndices indican diferencias significativas entre los tres tipos de cecina estudiados (Tukey test: $p < 0,05$).

En esta tabla, puede observarse que, las características sensoriales de los tres tipos de cecina difieren ($p < 0,05$) en la presencia de grasa intermuscular, en el

Resultados y discusión

color de la grasa, en la dureza, en la masticabilidad, en la pastosidad y en la persistencia del sabor. La contra fue el tipo de cecina que presentó una mayor ($p<0,05$) grasa intermuscular. Este mayor contenido graso también se detectó en el análisis físico-químico (Tabla 9). Además, se encontró una correlación positiva entre el contenido graso y la presencia de grasa intermuscular ($r=0,60$, $p<0,001$). En relación a la dureza y la masticabilidad, también fue la contra la que presentó valores mayores ($p<0,05$), lo que confirmó los resultados del análisis instrumental (Tabla 11).

1.3 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

Los resultados obtenidos en los parámetros físico-químicos y sensoriales para los tres tipos de cecina estudiados fueron sometidos a un análisis de componentes principales para buscar las relaciones entre los tres tipos de Cecina de León. La Figura 24 muestra el análisis de los componentes principales de las variables físico-químicas y la Figura 25 el de las variables sensoriales.

En la Figura 24 el primer componente (CP1) explica un 39,37% del total de la varianza. El contenido en minerales, cenizas, proteínas y azúcares presentó carga positiva sobre el CP1, mientras que el contenido en grasa y ácido oleico presentó carga negativa. El segundo componente (CP2) explica un 19,97% del total de la varianza y estuvo definido por el contenido de NaCl que presentó carga positiva y los ácidos grasos poliinsaturados que presentaron carga negativa. Las muestras de cecina analizadas se distribuyeron en tres grupos perfectamente separados sobre los dos componentes principales. El CP1 separó las muestras de contra de las muestras de babilla y de tapa. Por otro lado, las muestras de babilla y de tapa se separaron gracias al CP2. Las contra se situaron agrupadas en el lado izquierdo sobre el CP1; esta posición correspondía a un alto contenido en grasa. Las muestras de babilla se agruparon, al lado derecho, sobre el CP1 y presentaron carga negativa en CP2. Estas muestras se caracterizaron por un alto contenido en Fe, Ca y Zn y PUFA. Finalmente, las muestras de tapa se situaron en una posición intermedia sobre el CP1. Estas muestras se caracterizaron por un alto contenido de NaCl y por coeficientes positivos en el CP2.

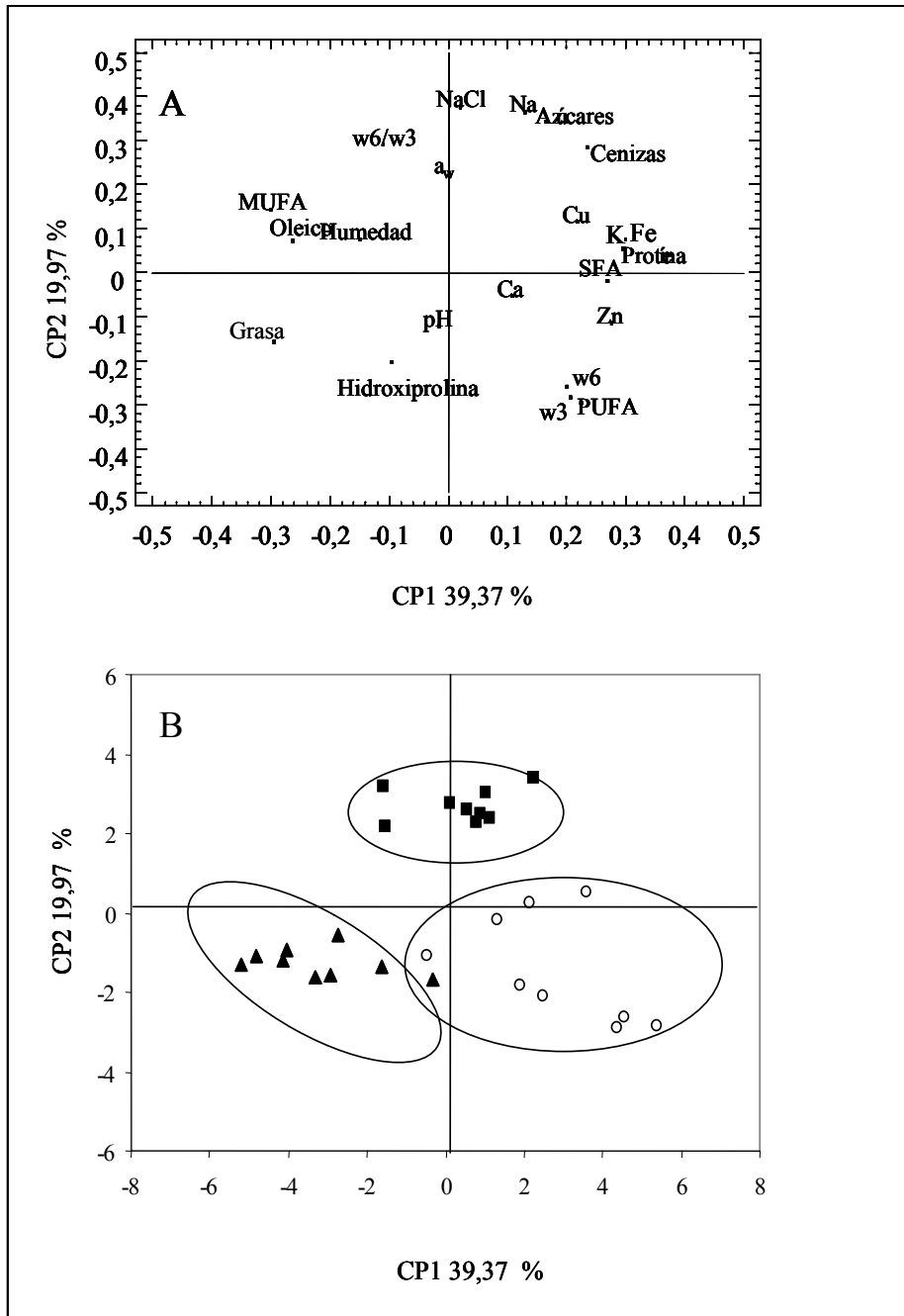


Figura 24-Distribución de los parámetros (A) y de las muestras (B) en el análisis de los componentes principales de los parámetros físicoquímicos de la Cecina de León: contra (▲), tapa (■) y babilla (○).

Resultados y discusión

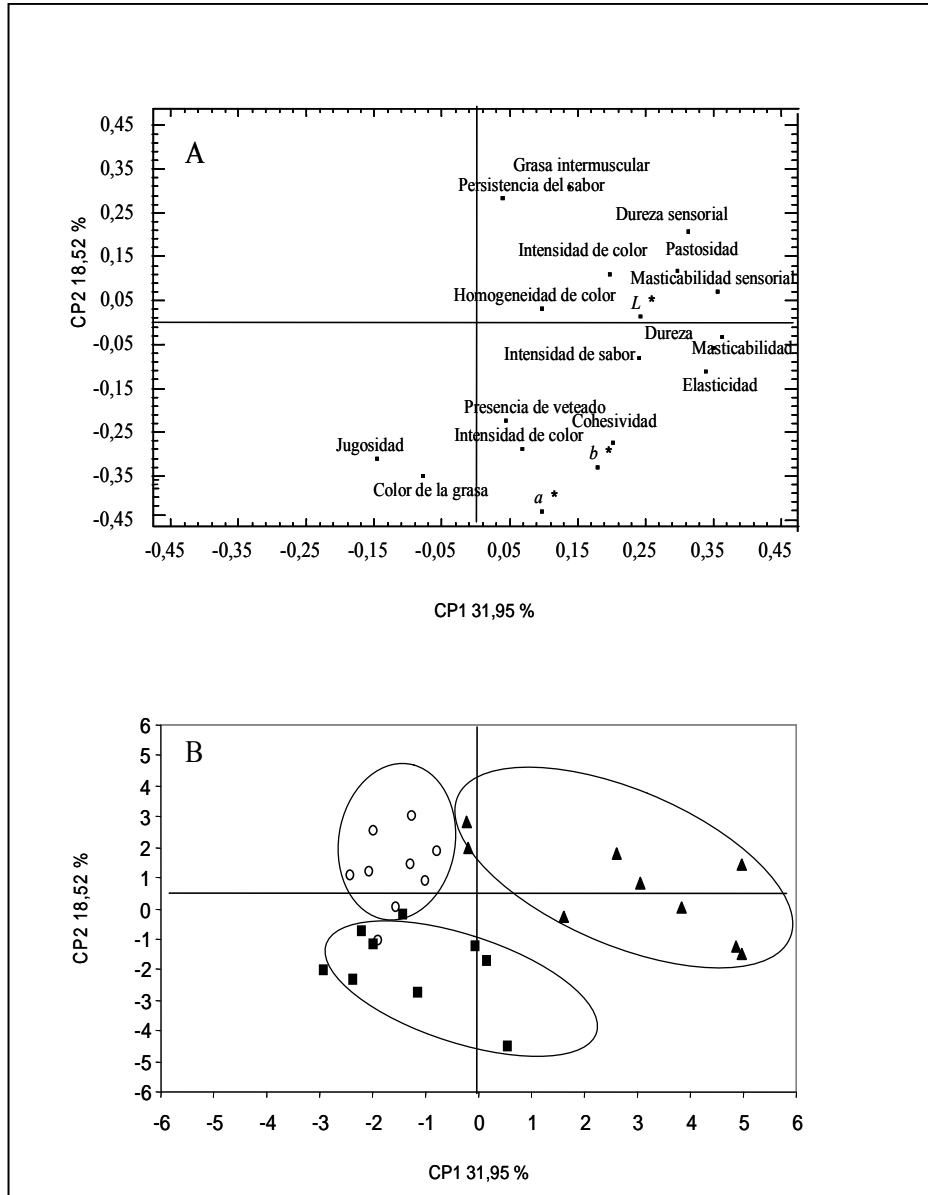


Figura 25.-Distribución de los parámetros (A) y de las muestras (B) en el análisis de los componentes principales de los parámetros sensoriales de la Cecina de León: contra (▲), tapa (■) y babilla (○).

Respecto a la Figura 25, los dos componentes principales explican un 50,47% del total de la varianza. El CP1 explica un 31,95% de la varianza. La grafica de distribución de los parámetros (A) muestra que la mayoría de los parámetros sensoriales tenían carga positiva en el CP1, excepto la jugosidad y el color de la grasa, los cuales presentaron carga negativa. El CP2, que explicó el 18,52% del total de la varianza, estuvo definido por la jugosidad, el color de la grasa y el color instrumental, que presentaron sobre él carga negativa y por la persistencia del sabor y la grasa intermuscular, que presentaron carga positiva. En este caso, el CP1 separó a las muestras de contra de las de babilla y tapa; estas últimas muestras quedaron separadas sobre el CP2. Las muestras de contra quedaron agrupadaa a la derecha, posición que correspondió a valores elevados de los parámetros sensoriales que definían el CP1.

1.4. RESUMEN

Los resultados obtenidos indicaron que la materia prima de partida no afecta ni al pH, ni a la a_w del producto final. Sin embargo, respecto a la composición química proximal, la cecina elaborada a partir de la contra fue la que presentó un mayor contenido en grasa, lo que supuso un menor contenido de proteína, carbohidratos y cenizas. Por otro lado, el perfil de ácidos grasos fue el característico de un producto cárnico elaborado a partir de carne de vacuno, siendo elevado el porcentaje de ácidos grasos saturados y monoinsaturados, fundamentalmente de ácido oleico. En las muestras de cecina elaboradas a partir de babilla, el contenido de ácidos grasos monoinsaturados fue menor, lo que implicó una relación de ácidos grasos poliinsaturados/saturados inferior a las recomendaciones nutricionales ($>0,4$). Por otro lado, las cecinas elaboradas a partir babilla presentaron la mejor relación de ácidos grasos ω_6/ω_3 (3,5).

En lo referente al color, la cecina elaborada a partir de la babilla fue la que presentó un menor índice de rojo y amarillo, no encontrándose diferencias entre las cecinas elaboradas a partir de la tapa y de la contra. Respecto a la textura, las cecinas elaboradas a partir de babilla y de tapa fueron las que presentaron una menor dureza y masticabilidad, analizadas tanto instrumentalmente como con un panel de catadores entrenado, posiblemente debido a la menor cantidad de tejido conectivo en estas piezas, como indica el menor contenido de hidroxiprolina de las mismas. La cecina elaborada a partir de la contra, además

Resultados y discusión

de ser la más dura, fue la que presentó valores más altos de grasa intermuscular, pastosidad, masticabilidad y de persistencia del flavor.

2. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA CECINA DE LEÓN

Una vez caracterizada la Cecina de León y conociendo sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales, en la segunda parte de la Tesis se trató de optimizar su proceso de elaboración para conseguir un producto final con características idóneas y uniformes.

En los productos cárnicos hay gran número de variables que influyen sobre las características del producto final, siendo quizás, la materia prima de partida uno de los factores más importantes. La disponibilidad de materia prima no suele ajustarse a las necesidades de la industria elaboradora de cecina, por lo que la posibilidad de utilizar materia prima congelada es una alternativa útil, ya que permitiría la adquisición de materia prima con las características apropiadas, sin tener que estar condicionada por la oferta en el mercado.

2.1. INFLUENCIA DEL PESO Y DEL TRATAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA

2.1.1. Experimento 1: peso y tratamiento de la materia prima

En esta primera parte se introdujeron dos variables de estudio en la elaboración de la cecina (peso y método de conservación de la materia prima de partida) para ver si afectaban a las características finales del producto y, en ese caso, en qué modo. Para ello se partió de 16 piezas de babilla frescas que se dividieron en 2 lotes en función de su peso, que a su vez se subdividieron en función del tratamiento dado a la materia prima (refrigeración o congelación/descongelación). En estos lotes, se estudió la influencia del peso y del método de conservación de la materia prima de partida, sobre los parámetros físico-químicos, proteolíticos y sensoriales de la Cecina de León.

2.1.1.1. Características físico-químicas

La Tabla 13 muestra los resultados fisicoquímicos obtenidos para la cecina elaborada a partir de babillas de bajo y alto peso y de piezas refrigeradas y

Resultados y discusión

congeladas/descongeladas. En esta tabla se incluyen los resultados obtenidos en estos parámetros en la materia prima de partida.

Tabla 13. Efecto del peso de las piezas (alto, bajo) y del método de conservación de la materia prima (refrigerada: R, congelada/descongelada: C) sobre las propiedades fisicoquímicas.

| MATERIA PRIMA | | | | |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| LOTES | | | | |
| Parámetros | <i>Alto</i> | <i>Bajo</i> | <i>R</i> | <i>C</i> |
| a_w | 0,992 | 0,993 | 0,993 | 0,992 |
| pH | 5,70 | 5,66 | 5,66 | 5,70 |
| Humedad (%) | 73,75 ^a | 74,55 ^b | 75,08 ^b | 73,08 ^a |
| Grasa (% ES) | 12,48 | 11,79 | 11,95 | 12,33 |
| Proteína (% ES) | 82,88 | 83,87 | 83,35 | 83,41 |
| Cenizas (% ES) | 4,27 | 4,24 | 4,23 | 4,28 |
| NaCl (% ES) | 2,24 | 2,27 | 2,25 | 2,25 |
| Azúcares (% ES) | 1,08 | 1,07 | 1,08 | 1,06 |
| Hidroxirolina (% ES) | 0,43 | 0,45 | 0,47 | 0,41 |
| PRODUCTO FINAL | | | | |
| LOTES | | | | |
| Parámetros | <i>Alto</i> | <i>Bajo</i> | <i>R</i> | <i>C</i> |
| a_w | 0,926 ^b | 0,702 ^a | 0,817 | 0,816 |
| pH | 5,65 | 5,66 | 5,62 | 5,70 |
| Humedad (%) | 57,47 ^b | 36,06 ^a | 50,38 ^b | 43,15 ^a |
| Grasa (% ES) | 15,91 ^b | 6,22 ^a | 10,89 ^a | 11,23 ^b |
| Proteína (% ES) | 65,38 ^b | 63,11 ^a | 68,50 ^b | 60,44 ^a |
| Cenizas (% ES) | 18,82 ^a | 24,36 ^b | 20,70 ^a | 28,48 ^b |
| NaCl (% ES) | 13,39 ^a | 21,30 ^b | 15,64 ^a | 19,04 ^b |
| Azúcares (% ES) | 1,17 | 1,07 | 1,10 | 1,14 |
| Hidroxirolina (% ES) | 0,39 | 0,38 | 0,39 | 0,38 |

^{a,b} Valores medios con diferente letra en la misma fila y para cada variable indican diferencias significativas (p<0,05).

ES: Extracto seco.

Resultados y discusión

En la **materia prima**, los resultados obtenidos muestran que el peso inicial y el método de conservación no influyen ($p > 0,05$) sobre las características físico-químicas estudiadas, a excepción del contenido de humedad, siendo las piezas con un mayor tamaño y que fueron congeladas/descongeladas, las que presentaron un menor ($p < 0,05$) contenido en humedad.

Los resultados obtenidos para el **producto curado** mostraron que la mayoría de los parámetros físico-químicos se veían afectados ($p < 0,05$) tanto por el peso como por el método de conservación de la materia prima. La cecina elaborada a partir de piezas de pequeño tamaño presentó menores ($p < 0,05$) valores de a_w , contenido en humedad, grasa y proteína y un mayor ($p < 0,05$) contenido en cenizas. A pesar de que el tiempo de salado se calculó en base al peso inicial de las piezas, este tipo de cecina presentó un mayor ($p < 0,05$) contenido en sal. Este mayor contenido en sal podría explicar los resultados comentados anteriormente, ya que un alto contenido en sal favorece la disminución de la a_w y la deshidratación a lo largo del proceso de elaboración y da lugar a un mayor contenido en cenizas, y por consiguiente un menor porcentaje en proteína y grasa.

Con respecto al método de conservación de la materia prima, la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada mostró contenidos más bajos ($p < 0,05$) en humedad y en proteína y un mayor ($p < 0,05$) contenido en grasa, cenizas y sal. El mayor contenido ($p < 0,05$) en sal de las piezas elaboradas a partir de materia prima congelada/descongelada en principio podría resultar extraño ya que el tiempo de salado para estas piezas fue corto, comparado con las cecinas elaboradas a partir de materia prima refrigerada. Sin embargo, la congelación provoca cambios en la estructura, debido a los daños que producen los cristales de hielo en las fibras musculares, lo cual favorece una mayor pérdida de agua durante la descongelación (Wang, 2001). Además, la congelación provoca la desnaturalización de las proteínas de la carne, lo cual favorece la penetración de los agentes de curado (Kang y col., 1983), lo que podría explicar el alto contenido de sal de la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada. Una tendencia similar fue descrita por Bañón y col. (1999) y Wang (2001) en jamón elaborado a partir de materia prima congelada/descongelada. Como consecuencia de este alto contenido de sal, la

cecina elaborada a partir de materia prima congelada también presentó un mayor contenido de cenizas.

2.1.1.2. Evaluación de la proteolisis

La Tabla 14 muestra los valores obtenidos para los parámetros relacionados con la proteolisis, nitrógeno no proteico (NNP), nitrógeno aminoacídico (NA) y nitrógeno peptiico (NP) en la materia prima y en el producto acabado.

Tabla 14. Efecto del peso de las piezas (alto, bajo) y del método de conservación de la materia prima (refrigerada: R, congelada/descongelada: C) sobre los parámetros relacionados con la proteolisis: nitrógeno no proteico (NNP), nitrógeno aminoacídico (NA) y nitrógeno peptídico (NP) (mg N/100g materia seca).

| MATERIA PRIMA | | | | |
|----------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| LOTES | | | | |
| Parámetros | <i>Alto</i> | <i>Bajo</i> | <i>R</i> | <i>C</i> |
| NNP | 686,51 | 643,89 | 608,63 ^a | 721,78 ^b |
| NA | 172,94 | 176,16 | 120,47 ^a | 228,63 ^b |
| NP | 441,27 | 433,66 | 353,97 ^a | 520,97 ^b |
| PRODUCTO FINAL | | | | |
| LOTES | | | | |
| Parámetros | <i>Alto</i> | <i>Bajo</i> | <i>R</i> | <i>C</i> |
| NNP | 1457,45 ^b | 1263,47 ^a | 1272,00 ^a | 1448,92 ^b |
| NA | 691,25 ^b | 600,30 ^a | 535,09 ^a | 759,46 ^b |
| NP | 405,45 ^b | 293,11 ^a | 322,71 ^a | 375,86 ^b |

^{a,b} Valores medios con diferente letra en la misma fila y para cada variable indican diferencias significativas (p<0,05).

Respecto a la **materia prima**, el peso inicial de la piezas no influyó (p>0,05) sobre los parámetros proteolíticos. Sin embargo, el método de conservación sí tuvo efecto sobre los parámetros relacionados con la actividad proteolítica, siendo las piezas congeladas/descongeladas las que presentaron valores más altos (p<0,05) de NNP, NA y NP. Estos resultados podrían ser debidos a una cierta desnaturalización de las proteínas durante el almacenamiento en

Resultados y discusión

congelación provocada por la cristalización del agua intramuscular, debido a un doble mecanismo de modificación de la fuerza iónica y translocación del agua intramuscular (Bañón y col., 1999).

En el **producto curado**, tanto el peso de las piezas como el método de conservación influyeron ($p < 0,05$) sobre el contenido en NNP, NA y NP. Los resultados muestran que la cecina elaborada a partir de piezas con mayor tamaño presentó un mayor contenido en NNP, NA y NP. Toldrá y col. (1997) indicaron que, en jamón curado, las piezas con un mayor peso medio (12,5 Kg respecto a 10,5 Kg) presentaban una mayor actividad de las catepsinas B y B+L.

Estudios previos han demostrado que aparte de la influencia de factores como la temperatura o el pH, la actividad proteolítica durante el proceso de curado está regulada por la concentración de sal y la actividad de agua (Toldrá y col., 1997; Toldrá, 2006a). Así, autores como Sárraga y col. (1989) y Virgili y col. (1995) demostraron el efecto inhibitorio de la sal sobre las proteinasas e indicaron que éste era más pronunciado sobre las catepsinas H y D y las aminopeptidasas. Además, el descenso de la a_w disminuye la actividad proteolítica de las catepsinas y aminopeptidasas principalmente (Schivazappa y col., 2002). En este sentido, los resultados obtenidos son lógicos, ya que la cecina elaborada a partir de materia prima de alto peso presentó un menor contenido en sal y un mayor valor de a_w ($p < 0,05$) (Tabla 13).

Por otro lado, la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada presentó un mayor ($p < 0,05$) contenido en NNP, NA y NP, lo cual probablemente fue consecuencia de una mayor actividad proteolítica en este tipo de cecina. Aunque este tipo de cecina presenta un mayor contenido en sal, que como se ha mencionado anteriormente podría disminuir la actividad proteolítica, la desnaturalización proteica que se produce durante la congelación hace que las proteínas sean más sensibles al ataque de las enzimas proteolíticas liberadas tras la ruptura de las membranas celulares por los cristales de hielo (Bañón y col., 1999).

Los valores de NNP, NA y NP encontrados en este estudio son similares a los encontrados por García y col. (1998) en cecina.

2.1.1.3. Características sensoriales

La Tabla 15 muestra los resultados obtenidos en la **evaluación instrumental del color** (L^* , a^* y b^*) y de la textura (dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad) en el producto curado.

Tabla 15. Efecto del peso de las piezas (alto, bajo) y del método de conservación de la materia prima (refrigerada: R, congelada/descongelada: C) sobre el color y la textura instrumental del producto curado.

| PRODUCTO FINAL | | | | |
|---------------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| LOTES | | | | |
| Parámetros | <i>Alto</i> | <i>Bajo</i> | <i>R</i> | <i>C</i> |
| L^* | 29,77 ^b | 27,03 ^a | 30,47 ^b | 26,33 ^a |
| a^* | 7,56 | 8,75 | 10,26 ^b | 6,09 ^a |
| b^* | 4,75 | 5,15 | 5,37 ^b | 4,53 ^a |
| Dureza (g) | 4083,60 ^a | 11110,20 ^b | 6861,86 ^a | 8331,92 ^b |
| Elasticidad | 0,59 | 0,44 | 0,48 | 0,55 |
| Cohesividad | 0,42 ^b | 0,38 ^a | 0,44 ^b | 0,37 ^a |
| Masticabilidad (g) | 867,67 ^a | 1638,25 ^b | 1237,47 ^a | 1668,45 ^b |

^{a,b} Valores medios con diferente letra en la misma fila y para cada variable indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tanto las cecinas elaboradas con piezas de menor peso como las elaboradas a partir de materia prima congelada/descongelada presentaron un menor valor ($p < 0,05$) de L^* . Autores como Sanabria y col. (2004) indicaron que durante el proceso de curado del jamón ibérico, el descenso de L^* fue debido a la pérdida de humedad y al incremento de la concentración de pigmentos como la mioglobina. De modo similar en este estudio, los lotes bajo y C presentaron un menor contenido de humedad y un mayor contenido de sal (Tabla 13).

Los valores de a^* y de b^* sólo se vieron afectados ($p < 0,05$) por el método de conservación de la materia prima, siendo la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada la que presentó valores más bajos. En la bibliografía consultada no se han encontrado estudios sobre el efecto de la congelación de la materia prima en el color de la cecina. En jamón curado

Resultados y discusión

elaborado a partir de materia prima congelada/descongelada, Bañón y col. (1999) indicaron resultados similares a los de este estudio.

En relación a los **parámetros de textura** (Tabla 15), la cecina elaborada a partir de piezas de menor tamaño y la elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada presentaron un mayor valor ($p < 0,05$) de **dureza** y **masticabilidad** y un menor valor ($p < 0,05$) de **cohesividad**. Autores como Serra y col. (2005) encontraron una correlación negativa entre la dureza y el contenido de humedad y la a_w , y una correlación positiva de la cohesividad y la elasticidad con el contenido de humedad y la a_w . Ruiz-Ramírez y col. (2005) también observaron en productos curados que la dureza aumentaba con el contenido de sal. La sal ejerce un efecto inhibitorio sobre la actividad de las proteasas y, en definitiva, sobre la actividad proteolítica, lo que podría traducirse en un aumento de la dureza (Sárraga y col., 1989; Virgili y col., 1995). En nuestro estudio las cecinas elaboradas a partir de piezas de menor tamaño y las elaboradas a partir de materia prima congelada/descongelada presentaron un menor contenido de humedad y mayor contenido de sal (Tabla 13) lo que podría explicar la mayor dureza.

Los resultados obtenidos en el **análisis sensorial descriptivo** realizado en el producto curado con un panel de catadores entrenados, se muestran en la Tabla 16. Estos resultados ponen de manifiesto que la mayoría de los parámetros sensoriales evaluados se ven afectados tanto por el peso de las piezas como por el tratamiento de la materia prima.

La cecina elaborada a partir de **piezas de alto peso** presentó valores mayores ($p < 0,05$) de veteado, de grasa intermuscular, de intensidad de olor y flavor y jugosidad y valores menores ($p < 0,05$) de dureza y de masticabilidad. Por otro lado, la cecina elaborada a partir de **materia prima congelada/descongelada** mostró valores menores ($p < 0,05$) de homogeneidad e intensidad de color, de masticabilidad y de pastosidad y, valores mayores ($p < 0,05$) de veteado, de intensidad de olor y flavor, de persistencia del flavor, de dureza y de jugosidad.

Tabla 16. Efecto del peso de las piezas (alto, bajo) y del método de conservación de la materia prima (refrigerada: R, congelada/descongelada: C) sobre las puntuaciones obtenidas en el análisis sensorial realizado con catadores entrenados, en el producto final (1: valor mínimo, 5: valor máximo).

| PRODUCTO FINAL | | | | |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| LOTES | | | | |
| Parámetros | <i>Alto</i> | <i>Bajo</i> | <i>R</i> | <i>C</i> |
| Homogeneidad del color | 3,17 | 3,53 | 3,69 ^b | 3,01 ^a |
| Intensidad de color | 3,72 | 3,35 | 4,75 ^b | 2,62 ^a |
| Presencia de veteado | 2,85 ^b | 2,04 ^a | 1,86 ^a | 3,02 ^b |
| Color de la grasa | 2,03 | 1,82 | 1,99 | 1,88 |
| Grasa intermuscular | 2,52 ^b | 1,53 ^a | 2,00 | 2,04 |
| Intensidad de olor | 3,29 ^b | 2,82 ^a | 2,87 ^a | 3,24 ^b |
| Dureza | 1,82 ^a | 4,00 ^b | 2,72 ^a | 3,11 ^b |
| Masticabilidad | 3,28 ^a | 3,69 ^b | 3,98 ^b | 2,99 ^a |
| Jugosidad | 3,12 ^b | 2,25 ^a | 2,00 ^a | 3,37 ^b |
| Pastosidad | 1,42 | 1,49 | 1,78 ^b | 1,13 ^a |
| Intensidad de flavor | 3,25 ^b | 2,75 ^a | 2,81 ^a | 3,20 ^b |
| Persistencia del flavor | 3,27 | 3,15 | 2,99 ^a | 3,43 ^b |

^{a,b} Valores medios con diferente letra en la misma fila y para cada variable indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Los resultados obtenidos para el análisis sensorial de la dureza confirman con los encontrados en el análisis instrumental (Tabla 15), así la mayor dureza corresponde a las cecinas elaboradas a partir de piezas de bajo peso y de materia prima congelada/descongelada.

La mayor presencia de veteado y de grasa intermuscular en la cecina elaborada a partir de piezas de alto peso, es lógica si tiene en cuenta que estas piezas proceden de animales de mayor edad (Beattie y col., 1999). Este mayor contenido graso favoreció las propiedades de textura en este tipo de cecinas (menor dureza y masticabilidad y mayor jugosidad).

Finalmente, los resultados obtenidos en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada (mayor intensidad de olor y flavor y persistencia del flavor y, la menor pastosidad y masticabilidad) estarían

Resultados y discusión

relacionados con la mayor actividad proteolítica (Tabla 14) encontrada en este tipo de cecina.

2.1.1.4. Resumen

De acuerdo con los resultados fisicoquímicos obtenidos, las diferencias encontradas están relacionadas con el contenido en sal, de manera que la cecina elaborada con piezas de bajo peso presentó un mayor contenido en sal, lo que condicionó por una parte la composición química proximal, dando como resultado una cecina con un mayor contenido en cenizas y como consecuencia un menor contenido en humedad, en proteína y en grasa. Por otro lado, la sal influyó sobre los procesos proteolíticos, de modo que, en las cecinas de bajo peso (que presentaron un mayor contenido en sal) la proteólisis fue menor (menor contenido en NPN, NA y NP). Puesto que los procesos proteolíticos contribuyen a mejorar las características sensoriales de los productos cárnicos crudos curados, la cecina elaborada a partir de piezas de bajo peso presentó peor calidad sensorial, caracterizándose por una mayor dureza, mayor masticabilidad, menor jugosidad y olor característico menos intenso.

Por otra parte, los cambios producidos en la carne durante el proceso de congelación/descongelación dieron lugar a diferencias en el producto final. La cecina elaborada con materia prima congelada presentó un menor contenido en humedad y un mayor contenido en sal. El aumento en el contenido en sal, en este caso, no disminuyó la actividad enzimática, prevaleciendo el efecto de la desnaturalización proteica producida durante la congelación. Así, la cecina elaborada a partir de materia prima congelada presentó mayor contenido de NNP, PNP y NA, lo que determinó un olor y flavor más intensos, y una mayor jugosidad y persistencia del flavor.

Todo ello hizo pensar que la posibilidad de partir de materia prima congelada/descongelada, podría ser una buena opción para conseguir lotes de materia prima homogénea y conseguir un producto final con buenas características sensoriales. No obstante, en este experimento quedaron algunos aspectos poco claros, principalmente debido a la variabilidad en el salado que determinó el trabajar con piezas de diferente peso. Así, la siguiente etapa de este estudio se centró exclusivamente en conocer el efecto sobre la cecina de la utilización de materia prima congelada/descongelada. Para ello se planteó el

estudio de dicho efecto a lo largo del proceso de elaboración y no sólo en el producto final, ya que no era bien conocida la influencia de este tipo de materia prima. Aunque este aspecto sí se ha estudiado en el jamón curado, no se han encontrado trabajos referentes a la cecina.

2.1.2. Experimento 2: materia prima refrigerada o congelada/descongelada

Con objeto de evaluar el efecto de la congelación de la materia prima sobre el desarrollo de las características de la Cecina de León a lo largo del proceso de elaboración, se partió de 24 piezas de babilla frescas que se dividieron en 2 lotes en función del tratamiento dado a la materia prima (refrigeración o congelación/descongelación). En estos lotes, se estudió la evolución de los parámetros microbiológicos, físico-químicos, proteolíticos, lipolíticos y sensoriales a lo largo del proceso de elaboración de la Cecina de León.

2.1.2.1. Características microbiológicas

En la Tabla 17 se presentan los resultados de los análisis microbiológicos (flora aerobia mesófila viable (FAMV), micrococaceas y bacterias ácido lácticas (BAL), para los dos lotes de cecina, elaborada a partir de materia prima refrigerada y materia congelada.

Los recuentos de **FAMV**, que se obtuvieron en el día 0, fueron elevados (lg 4,74-5,00 ufc/g). Resultados similares se han observado en materias primas usadas para la elaboración de cecina y otros productos cárnicos como el lacón, jamón “bundnerfleisch” y “milton” (García y col., 1995; Vilar y col., 2000), lo que indica que una elevada presencia de FAMV es bastante habitual en la materia prima utilizada para la elaboración de productos cárnicos.

Los recuentos de **enterobacterias** se situaron por debajo del límite de detección en los dos tipos de cecina y a lo largo del proceso de elaboración. Este grupo de bacterias es indicador de las condiciones higiénicas del producto.

A lo largo del proceso de elaboración de la cecina, la flora predominante fue las **BAL** y las **micrococaceas**, como ya habían descrito otros autores (García y col., 1995). Estos grupos de bacterias son halotolerantes por lo que se ven poco afectadas por la presión osmótica y por la desecación parcial causada por la sal (Cornejo y col., 1992; Cornejo y Carrascosa, 1991). En este estudio los

Resultados y discusión

recuentos microbianos obtenidos descendieron a lo largo del proceso de elaboración posiblemente debido a una disminución de la a_w .

Tabla 17. Recuentos microbianos (lg ufc/g) (valores medios) durante el proceso de elaboración de la cecina a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de materia prima congelada/descongelada (C).

| Días | FAMV | | Micrococaceas | | BAL | | Enterobacterias | |
|------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------|----|
| | R | C | R | C | R | C | R | C |
| 0 | ^A 4,74 _{bc} | ^A 5,00 _c | ^A 4,00 _{cd} | ^A 4,00 _{cd} | ^A 3,36 _{de} | ^A 3,45 _{bc} | ND | ND |
| 40 | ^A 5,00 _c | ^B 5,30 _c | ^A 4,57 _d | ^B 5,04 _e | ^A 4,07 _g | ^B 4,32 _d | ND | ND |
| 60 | ^A 4,57 _b | ^B 5,17 _c | ^A 4,00 _c | ^B 4,57 _d | ^A 3,72 _f | ^B 4,00 _{cd} | ND | ND |
| 120 | ^A 4,85 _c | ^A 5,04 _c | ^A 4,00 _{cd} | ^A 4,00 _c | ^A 3,70 _f | ^A 3,75 _c | ND | ND |
| 180 | ^A 4,57 _b | ^A 4,34 _b | ^A 3,80 _{bc} | ^A 4,00 _c | ^A 3,57 _e | ^A 3,60 _{bc} | ND | ND |
| 210 | ^A 4,07 _a | ^A 4,34 _b | ^A 3,80 _{bc} | ^A 4,00 _c | ^A 3,19 _{cd} | ^A 3,55 _{bc} | ND | ND |
| 250 | ^A 4,07 _a | ^A 4,00 _{ab} | ^A 3,57 _b | ^A 3,37 _b | ^A 3,11 _c | ^A 3,11 _b | ND | ND |
| 300 | ^A 4,00 _a | ^A 4,00 _{ab} | ^A 3,36 _b | ^A 3,57 _b | ^A 2,81 _b | ^B 3,05 _b | ND | ND |
| 360 | ^A 3,50 _a | ^A 3,74 _a | ^A 3,05 _a | ^A 3,05 _a | ^A 2,06 _a | ^A 2,20 _a | ND | ND |

^{a,b,c,d,e,f,g} Valores medios con diferente letra en la misma columna indican diferencias significativas a lo largo del proceso de elaboración en cada lote (Test de Tuckey: $p < 0,05$).

^{A,B} Valores medios con diferentes letra en la misma fila indican diferencias significativas entre lotes para cada parámetro (Test de Tukey: $p < 0,05$)

FAMV: flora aerobia mesófila viable; BAL: bacterias ácido lácticas; ND: no detectados.

La cecina elaborada a partir de materia prima congelada presentó mayores recuentos ($p < 0,05$) en la etapa de post-salado de FAMV, debido probablemente a que el producto congelado/descogelado libera más jugo, que es un medio idoneo para el desarrollo bacteriano. Posteriormente, después de la etapa de ahumado hasta el final del proceso de elaboración, no se encontraron diferencias ($p > 0,05$) en los recuentos microbianos entre la cecina proveniente de materia prima refrigerada y congelada.

2.1.2.2. Características físico-químicas

La evolución del contenido de humedad y NaCl, pH y a_w en la cecina elaborada a partir de materia prima refrigerada y congelada/descongelada, se muestra en la Tabla 18.

Tabla 18. Evolución del contenido de humedad (%), NaCl (%), pH y a_w , durante el proceso de elaboración de la cecina a partir de materia prima refrigerada (R) y congelada/descongelada (C).

| Días | Humedad | | NaCl | | pH | | a_w | |
|------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | R | C | R | C | R | C | R | C |
| 0 | ^A 73,89 _h | ^A 73,30 _h | ^A 0,92 _a | ^A 1,08 _a | ^A 5,56 _a | ^A 5,54 _a | ^B 0,994 _g | ^A 0,992 _g |
| 40 | ^B 68,06 _g | ^A 66,34 _g | ^A 12,58 _b | ^A 11,53 _b | ^A 5,66 _{ab} | ^A 5,54 _a | ^B 0,969 _f | ^A 0,954 _f |
| 60 | ^A 66,14 _f | ^A 66,01 _g | ^A 13,41 _c | ^B 14,53 _c | ^B 5,69 _{ab} | ^A 5,65 _{ab} | ^B 0,954 _e | ^A 0,936 _e |
| 120 | ^B 64,72 _e | ^A 63,85 _f | ^A 13,49 _c | ^B 14,53 _c | ^A 5,87 _{ab} | ^A 5,65 _{ab} | ^A 0,934 _d | ^A 0,936 _e |
| 180 | ^A 60,14 _d | ^A 60,40 _e | ^A 14,05 _d | ^B 14,93 _c | ^A 5,92 _b | ^A 5,74 _{abc} | ^B 0,930 _d | ^A 0,922 _d |
| 210 | ^B 56,05 _c | ^A 55,63 _d | ^A 14,35 _{de} | ^B 15,79 _d | ^A 5,95 _b | ^A 5,77 _{abc} | ^A 0,923 _c | ^A 0,923 _d |
| 250 | ^A 54,43 _b | ^A 54,53 _c | ^A 14,71 _e | ^A 15,90 _d | ^A 5,90 _b | ^A 5,87 _{bc} | ^B 0,918 _c | ^A 0,908 _c |
| 300 | ^A 50,23 _a | ^A 49,99 _b | ^A 14,60 _e | ^B 15,94 _d | ^A 5,87 _{ab} | ^A 5,97 _c | ^B 0,897 _b | ^A 0,877 _b |
| 360 | ^B 50,53 _a | ^A 44,93 _a | ^A 14,71 _e | ^B 15,93 _d | ^A 5,82 _{ab} | ^A 6,01 _c | ^B 0,876 _a | ^A 0,870 _a |

^{a,b,c,d,e,f,g,h} Valores medios con diferente letra en la misma columna indican diferencias significativas a lo largo del proceso de elaboración en un lote (Test de Tuckey: $p < 0,05$).

^{A,B} Valores medios con diferentes letra en la misma fila indican diferencias significativas entre lotes para cada uno de los parámetros (Test de Tukey: $p < 0,05$).

El contenido de **humedad** descendió progresiva y significativamente ($p < 0,05$) a lo largo del proceso de elaboración de la cecina en ambos lotes. Esta evolución fue similar a la observada por García y col. (1995) en Cecina de León con un tiempo de elaboración de 153 días.

Si se comparan ambos lotes, la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada presentó un menor contenido en humedad ($p < 0,05$) y, por lo tanto, una mayor pérdida de agua a lo largo del proceso. No hay estudios sobre el uso de materia prima congelada en la elaboración de cecina con los que se puedan comparar estos resultados; pero, como se ha mencionado en el

Resultados y discusión

experimento 1, sí se han encontrado estudios sobre jamón elaborado a partir de materia prima congelada/descongelada. Bañón y col. (1999) observaron tendencias similares a las encontradas en este estudio. Estos autores, indicaron que los cristales de hielo provocan daños y roturas celulares que favorecen la pérdida de agua.

Respecto al contenido en **NaCl**, tanto en el lote elaborado a partir de materia prima refrigerada como en el elaborado a partir de materia prima congelada/descongelada, éste aumentó significativamente ($p < 0,05$) después del salado hasta los 210 días de curado, probablemente debido a la continua deshidratación que se produce a lo largo del proceso de elaboración. Comparando los dos lotes estudiados, la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada presentó un mayor contenido en NaCl a partir de los 60 días. Wagner y Anon (1985), Arnau y col. (1994) y Bañón y col. (1999) también obtuvieron contenidos mayores de sal en jamones elaborados a partir de materia prima congelada/descongelada. Sin embargo, Flores y col. (2008) obtuvieron un menor contenido en sal en jamones ibéricos elaborados a partir de materia prima congelada/descongelada.

El **pH** aumentó ($p < 0,05$) ligeramente a lo largo del proceso de elaboración en los dos lotes de cecina estudiados. García y col. (1995) observaron una tendencia similar en la evolución del pH durante la elaboración de cecina. El incremento del pH pudo ser debido a la formación de compuestos alcalinos a partir de la degradación proteica, como ha sido sugerido por Dierick y col. (1974) en productos cárnicos. Entre lotes, no se encontraron diferencias ($p > 0,05$) en los valores de pH, por lo que parece que el proceso de congelación/descongelación no influye en el pH.

La **a_w** disminuyó ($p < 0,05$) a lo largo del proceso de elaboración en los dos lotes de cecina analizados. Este descenso puede atribuirse a la incorporación de la sal, pero fundamentalmente a la intensa deshidratación de las piezas a lo largo del proceso de elaboración. Entre lotes se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los valores de la a_w , de manera que, las cecinas elaboradas a partir de materia prima congelada/descongelada mostraron valores más bajos de a_w . Como ya se ha mencionado, los daños y roturas causadas por los cristales de hielo durante el proceso de congelación en las estructuras

musculares favorecen la pérdida de agua durante la descongelación. Además, el proceso de congelación afecta a la desnaturalización proteica y va a favorecer la penetración de los agentes de curado, hecho que ha sido descrito por varios autores (Wagner y Anon, 1985; Arnau y col., 1994; Bañón y col., 1999). Por ello, las cecinas elaboradas a partir de materia prima congelada/descongelada presentaron un mayor ($p < 0,05$) contenido en sal y menor contenido en humedad que las cecinas elaboradas a partir de materia prima refrigerada.

2.1.2.3. Evolución de la proteolisis y de la lipolisis

La Tabla 19 muestra los valores medios de los **parámetros relacionados con la proteolisis**, nitrógeno no proteico (NNP), nitrógeno aminoácidico (NA) y nitrógeno peptídico (NP). La evolución de estos parámetros a lo largo del proceso de elaboración fue similar en ambos lotes, aumentando progresivamente el **NNP** y el **NA**, mientras que el **NP** aumentó al comienzo del secado, hasta un determinado momento (210 días) en el que comienza a disminuir. Un comportamiento similar fue encontrado por Toldrá y col. (1992) y Córdoba y col. (1994a) en jamón curado. Destacar que el incremento de los parámetros proteolíticos analizados fue más evidente durante el proceso de ahumado (40-60 días), debido a que el aumento de la temperatura que se produce en esta fase favorece la actividad proteolítica (García y col., 1998).

El contenido de NA alcanzó su máximo valor a los 250 días en la cecina elaborada a partir de materia prima refrigerada y a los 180 días en la elaborada con materia prima congelada/descongelada, permaneciendo este parámetro constante hasta el final del proceso en ambos lotes a causa de la concentración de sal y de la a_w alcanzadas durante el periodo final del curado (Martín y col., 1998; Toldrá y col., 1992).

Entre los dos lotes de cecina, el contenido en NNP, NA y NP fue mayor ($p < 0,05$) en el lote elaborado a partir de materia prima congelada/descongelada, probablemente debido a que las alteraciones que sufren las proteínas durante el proceso de congelación y la rotura de las membranas celulares causadas por los cristales de hielo hacen que las proteínas sean más sensibles a la actividad de las enzimas proteolíticas (Heller y col., 1999).

Resultados y discusión

Tabla 19. Evolución de los parámetros relacionados con la proteólisis: nitrógeno no proteico (NNP), nitrógeno aminoacídico (NA) y nitrógeno peptídico (NP) (mg nitrógeno/100 g de extracto seco) durante el proceso de curado de la cecina elaborada a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de congelada/descongelada (C).

| Días | NNP | | NA | | NP | |
|------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | R | C | R | C | R | C |
| 0 | ^A 451,21 _a | ^B 505,26 _a | ^A 103,98 _a | ^A 106,32 _a | ^A 278,79 _a | ^B 320,21 _a |
| 40 | ^A 633,55 _b | ^B 708,54 _b | ^A 206,01 _b | ^A 206,98 _a | ^A 287,88 _a | ^B 404,00 _b |
| 60 | ^A 904,90 _c | ^B 1068,38 _c | ^A 386,38 _c | ^B 468,57 _b | ^A 373,71 _{bc} | ^B 467,51 _{cd} |
| 120 | ^A 1044,61 _d | ^B 1286,06 _d | ^A 464,98 _{cd} | ^B 595,20 _c | ^A 395,70 _c | ^B 464,47 _{cd} |
| 180 | ^A 1192,29 _e | ^B 1419,69 _e | ^A 515,88 _d | ^B 701,96 _d | ^A 425,71 _{cd} | ^A 482,81 _{cd} |
| 210 | ^A 1377,54 _f | ^B 1539,30 _{ef} | ^A 515,98 _d | ^B 718,31 _d | ^A 473,96 _d | ^B 493,75 _d |
| 250 | ^A 1451,02 _{fg} | ^B 1579,77 _f | ^A 669,44 _f | ^B 734,56 _d | ^A 369,75 _{bc} | ^B 452,95 _c |
| 300 | ^A 1450,75 _{fg} | ^B 1551,62 _{ef} | ^A 696,00 _f | ^A 695,34 _{cd} | ^A 284,01 _a | ^B 387,43 _b |
| 360 | ^A 1477,99 _g | ^B 1556,96 _f | ^A 722,54 _f | ^A 735,86 _d | ^A 316,96 _{ab} | ^B 454,41 _c |

^{a,b,c,d,e,f,g}. Valores medios con diferente letra en la misma columna indican diferencias significativas a lo largo del proceso de elaboración en un lote (Test de Tuckey: $p < 0,05$).

^{A,B} Valores medios con diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre lotes para cada uno de los parámetros (Test de Tukey: $p < 0,05$).

En jamón elaborado con materia prima congelada, Flores y col. (2006) y Bañón y col. (1999) observaron un comportamiento similar. En cambio, en jamones ibéricos no se han descrito diferencias en la actividad proteolítica entre jamones elaborados a partir de materia prima refrigerada y materia prima congelada/descongelada (Flores y col., 2008).

La Tabla 20 muestra la **evolución de las fracciones lipídicas**, lípidos neutros (LN), fosfolípidos (PL) y ácidos grasos libres (AGL), a lo largo del proceso de elaboración.

El contenido de **LN** no se modificó durante el proceso de elaboración de la cecina en ninguno de los dos lotes. El contenido de **PL** descendió ($p < 0,05$) a lo largo del proceso de elaboración. Larrea y col. (2006) indicaron que el descenso del contenido en PL durante la elaboración del jamón de Teruel fue debido a su

alto contenido de ácidos grasos insaturados, más inestables a lo largo del tiempo.

Tabla 20. Evolución de los parámetros relacionados con la lipólisis: lípidos neutros (LN), fosfolípidos (PL) y ácidos grasos libres (AGL) (% ácidos grasos libres de cada fracción respecto al contenido total de ácidos grasos) durante el proceso de elaboración de la cecina a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de congelada/descongelada (C).

| Días | LN | | PL | | AGL | |
|------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | R | C | R | C | C | R |
| 0 | ^A 80,41 _{ab} | ^A 81,96 _{abc} | ^A 15,08 _d | ^A 13,34 _c | ^A 4,50 _{ab} | ^A 4,69 _a |
| 40 | ^A 84,03 _b | ^A 84,32 _c | ^A 12,71 _{cd} | ^A 11,53 _{bc} | ^A 3,26 _a | ^A 4,14 _a |
| 60 | ^A 84,10 _b | ^A 84,51 _c | ^A 11,40 _c | ^A 8,31 _{abc} | ^A 4,50 _{ab} | ^B 7,17 _b |
| 120 | ^A 82,54 _{ab} | ^A 83,24 _{bc} | ^A 10,59 _c | ^A 8,28 _{abc} | ^A 6,87 _{bc} | ^A 8,47 _c |
| 180 | ^A 83,28 _{ab} | ^A 82,50 _{abc} | ^A 7,28 _b | ^A 7,58 _{ab} | ^A 9,44 _{cd} | ^A 9,92 _d |
| 210 | ^A 82,89 _{ab} | ^A 81,13 _{abc} | ^A 6,05 _{ab} | ^A 7,38 _{ab} | ^A 11,06 _d | ^A 11,49 _e |
| 250 | ^A 78,97 _a | ^A 78,23 _a | ^A 5,02 _{ab} | ^A 5,59 _a | ^A 16,01 _e | ^A 16,18 _f |
| 300 | ^A 79,68 _{ab} | ^A 78,77 _{ab} | ^A 5,14 _{ab} | ^A 5,59 _a | ^A 15,17 _e | ^A 15,63 _f |
| 360 | ^A 79,20 _{ab} | ^A 80,98 _{abc} | ^A 3,60 _a | ^A 4,00 _a | ^A 17,32 _e | ^A 15,98 _f |

^{a,b,c,d,e,f} Valores medios con diferente letra en la misma columna indican diferencias significativas a lo largo del proceso de elaboración en un lote (Test de Tuckey: $p < 0,05$).

^{A,B} Valores medios con diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre lotes para cada parámetro (Test de Tukey: $p < 0,05$).

La cantidad de **AGL** no se modificó ($p > 0,05$) durante las primeras fases del proceso de curado, probablemente debido a las bajas temperaturas. Sin embargo, el contenido en **AGL** aumentó ($p < 0,05$) considerablemente desde de la fase de ahumado hasta el final de proceso. Buscailhon y col. (1994) indicaron que el aumento de **AGL** estaba relacionado con la hidrólisis de los **PL**.

Entre los lotes de cecina elaborados con materia prima refrigerada y con materia prima congelada/descongelada no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) en los parámetros relacionados con la lipólisis. Estos resultados difieren de los descritos por Motilva y col. (1994) y Flores y col.

Resultados y discusión

(2008) que observaron que en jamón elaborado a partir de materia prima congelada/descongelada se producía una lipólisis más intensa.

2.1.2.4. Electroforesis SDS-PAGE

En la Figura 26 se muestra la **separación de las proteínas miofibrilares** extraídas de cecinas elaboradas a partir de materia prima refrigerada y a partir de materia prima congelada/descongelada, obtenida mediante electroforesis en geles de policrilamida con SDS. Los pesos moleculares de las proteínas y péptidos separados fueron identificados por comparación de su movilidad relativa con estándares de peso molecular conocido. La Tabla 21 muestra la cantidad relativa de las proteínas más importantes, en los distintos tiempos de muestreo, a lo largo del proceso de curado, tanto en la cecina elaborada con materia prima refrigerada como congelada/descongelada. Puede observarse que, en ambos lotes de cecina, las proteínas experimentaron modificaciones progresivas durante la elaboración.

Las principales diferencias entre los dos tipos de cecina se observaron en el comportamiento de las dos proteínas miofibrilares mayoritarias (miosina y actina). Por un lado, la cadena pesada de la **miosina**, con un peso molecular de 200 kDa, disminuyó progresivamente en ambos lotes. En la cecina elaborada a partir de materia prima refrigerada el descenso fue aproximadamente de un 55% frente a más de un 80% en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada, lo que confirma una mayor actividad proteolítica en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada.

Por otro lado, la concentración relativa de **actina** (45 kDa) descendió en ambos lotes de cecina a lo largo del procesado, pero de manera distinta. En la cecina elaborada a partir de materia prima refrigerada el descenso fue de un 20 % y sólo de un 5% en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada. En algunos estudios se ha mostrado que la proteína miosina es más sensible a la proteólisis que la actina, durante la maduración de la carne (Bechtel y Parrish, 1983). En la bibliografía consultada, no se han encontrado estudios electroforéticos de productos cárnicos elaborados con materia prima congelada/descongelada.

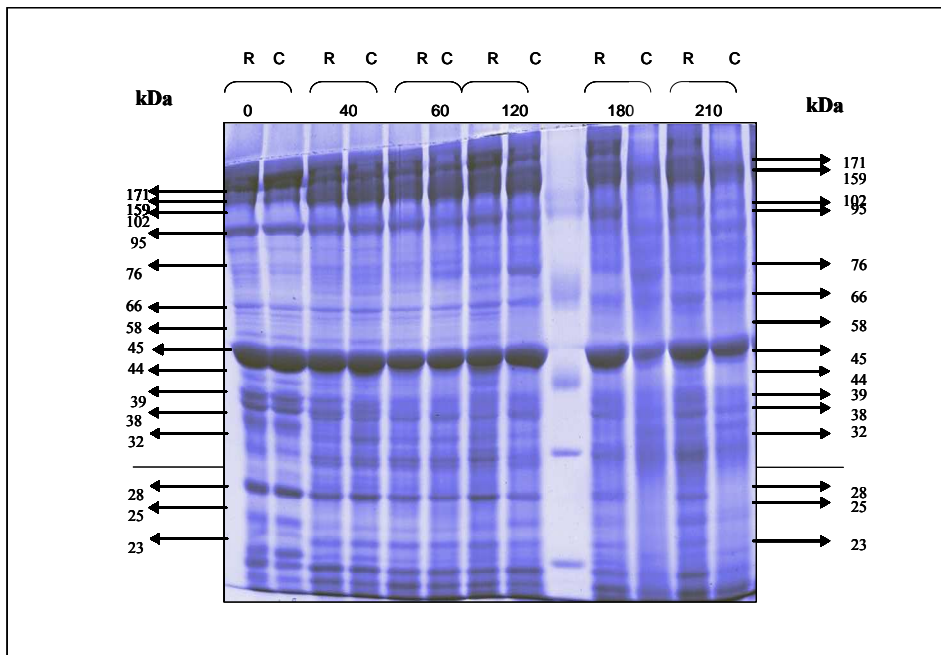


Figura 26.-Electroforesis SDS-PAGE de las proteínas miofibrilares extraídas, a lo largo del proceso de elaboración, de cecinas elaboradas a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de congelada/descongelada (C), separadas en gel de poliacrilamida con SDS.

Otras bandas de alto peso molecular, como la **banda de 171 kDa**, también disminuyeron a lo largo del procesado en los dos lotes estudiados. Además, como consecuencia de la degradación de la cadena de la miosina y de otras proteínas de pesos moleculares elevados, en estos lotes se produjo un aumento de algunos péptidos de menor peso molecular (**159 kDa**). También se produjo la aparición o el aumento de intensidad de las bandas correspondientes a algunos péptidos de menor peso molecular. Así, en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada el aumento de los péptidos de **90, 76 y 66 kDa** fue de aproximadamente un 40, 70 y 50 % respectivamente, frente a un 20, 50 y 20 % en la cecina elaborada a partir de materia prima refrigerada, confirmando de nuevo una mayor proteólisis a lo largo del procesado en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada.

Resultados y discusión

Tabla 21. Cantidad relativa* de las proteínas miofibrilares, durante el proceso de elaboración de la cecina a partir de materia prima refrigerada (R) y congelada/descongelada (C), separadas en gel de poliacrilamida con SDS.

| kDa | Día 0 | | Día 40 | | Día 60 | | Día 120 | | Día 180 | | Día 210 | |
|--------------|-------|------|--------|------|--------|------|---------|------|---------|------|---------|------|
| | R | C | R | C | R | C | R | C | R | C | R | C |
| 200 | 12,7 | 16,4 | 11,0 | 9,1 | 9,2 | 9,0 | 10,6 | 8,6 | 10,0 | 4,5 | 5,7 | 3,2 |
| 171 | | | 9,0 | 8,5 | 8,2 | 8,3 | 8,0 | 8,5 | 8,4 | 6,8 | 7,3 | 6,8 |
| 159 | 6,9 | 7,3 | | 9,5 | 8,0 | 9,5 | 7,8 | 9,6 | 10,1 | 8,2 | 7,8 | 8,7 |
| 102 | | | | 3,0 | 3,2 | 3,5 | | | | 5,0 | | 5,0 |
| 95 | 7,8 | 7,2 | 6,3 | 5,5 | 5,5 | 4,8 | 5,5 | 5,4 | 6,6 | | 5,1 | |
| 90 | | | | | | | 3,3 | 4,1 | 4,5 | 6,5 | 4,1 | 5,8 |
| 76 | 2,4 | 1,8 | 2,8 | 2,5 | 2,3 | 3,2 | 3,5 | 5,2 | 3,9 | 6,2 | 4,2 | 6,1 |
| 66 | 3,8 | 2,9 | 3,5 | 3,4 | 2,7 | 2,8 | 3,6 | 3,4 | 5,7 | 6,5 | 4,6 | 5,5 |
| 45 | 14,6 | 13,3 | 12,4 | 10,4 | 12,7 | 12,1 | 10,7 | 13,3 | 12,7 | 11,8 | 11,8 | 12,6 |
| 39 | 8,0 | 7,5 | 5,6 | 4,6 | 3,7 | 3,8 | 3,8 | 3,9 | 4,7 | 5,6 | 4,9 | 4,5 |
| 38 | 9,2 | 8,6 | 12,2 | 9,8 | 8,7 | 8,6 | 8,1 | 8,6 | 5,3 | 6,5 | 5,9 | 5,5 |
| 35 | 10,7 | 9,2 | | | | | | | | | | |
| 30 | 3,7 | 3,1 | 9,9 | 9,8 | 9,8 | 10,1 | 10,6 | 7,4 | 5,1 | 7,9 | 12,7 | 11,6 |
| 28 | 8,9 | 10,9 | 7,6 | 8,2 | 6,8 | 6,3 | 7,1 | 4,7 | 4,3 | 3,8 | 4,9 | 2,4 |
| 23 | | | 3,5 | 3,0 | 3,3 | 3,3 | 3,9 | 2,9 | 3,3 | 3,8 | 3,7 | 3,2 |
| 21 | 4,4 | 6,3 | | | | | | | | | | |
| 20 | 6,8 | 5,6 | 9,1 | 7,3 | 6,8 | 7,0 | 6,4 | 7,9 | 6,0 | 6,8 | 6,8 | 6,3 |
| 19-18 | | | 7,3 | 5,5 | 9,0 | 7,5 | 7,2 | 6,4 | 9,5 | 10,3 | 10,7 | 12,9 |

*: % respecto a la densidad óptica global de la línea correspondiente a cada punto de muestreo.

Numerosos estudios describen los cambios de las proteínas durante el proceso de curado. Thorainsdottir y col. (2002) observaron un descenso en la intensidad de la bandas pesadas de miosina (MHC) junto con un incremento en la intensidad de dos bandas (147 kDa y 86 kDa), siendo el aumento de estas bandas el resultado de la desnaturalización proteica de la miosina. Por otro lado, Larrea y col. (2006) observaron, en jamón curado, que la proteína de peso molecular 97 kDa (fosforilasa B) desaparecía, probablemente debido al efecto de la sal. En nuestro estudio se puede observar como la proteína de peso molecular 95 kDa desaparece bruscamente a partir de los 180 días de curado en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada. Otros

autores como García y col. (1997) estudiaron los cambios de las proteínas a lo largo del proceso de elaboración de la cecina, observando cambios similares en las proteínas miofibrilares a los encontrados en este estudio. Estos autores indicaron que la cadena pesada de la miosina y la troponina C desaparecen a partir de la fase de ahumado y péptidos con pesos moleculares de 90, 76 y 66 kD aparecen o aumentan durante el secado.

En relación a proteínas de bajo peso molecular, **39, 38, 28 kDa**, los resultados muestran que disminuyeron a lo largo del proceso de elaboración en los dos lotes de cecina estudiados. Concretamente, el descenso de las proteínas con pesos moleculares de 39 y 38 kDa fue similar en ambos lotes de cecina, mientras que el descenso de la banda de 28 kDa fue superior en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada. La banda de **30 kDa** sufrió un aumento elevado a lo largo de proceso de elaboración, que fue similar en los dos lotes de cecina. Finalmente, las bandas de peso molecular más bajo (**19-18 kDa**) aumentaron en ambos tipos de cecina, siendo superior este aumento en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada.

Por último indicar que, puesto que en estudios previos se ha puesto de manifiesto que la sal puede inhibir la actividad proteolítica (Sárraga y col., 1989), a la vista de los resultados obtenidos en el contenido de sal en los dos lotes (Tabla 18), se podría pensar que la actividad proteolítica en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/ descongelada se pudiera ver disminuida. Sin embargo, los resultados obtenidos en la electroforesis y en los parámetros proteolíticos muestran lo contrario. Esta mayor actividad proteolítica en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada podría ser debida a las modificaciones estructurales que provocan los cristales de hielo. Además, aunque se encontraron diferencias en el contenido de sal entre los dos tipos de cecina, éstas no fueron demasiado elevadas.

2.1.2.5. Características sensoriales

La Tabla 22 muestra los valores medios de los parámetros de color, luminosidad (L^*), índice de rojo (a^*) e índice de amarillo (b^*) a tres tiempos (0, 210 y 360 días) a lo largo del proceso de elaboración.

Resultados y discusión

En general, los resultados indicaron que los **parámetros de color** disminuían ($p < 0,05$) a lo largo del procesado. Una tendencia similar fue observada por Sanabria y col. (2004), durante el proceso de curado del jamón ibérico, atribuyendo estos autores, el descenso de L^* a la pérdida de humedad y al incremento de la concentración de pigmentos como la mioglobina. Además, este parámetro está influenciado por la concentración de sal, la cual altera el balance osmótico de los tejidos y reduce el agua disponible en la superficie de la carne dando lugar a una menor reflexión de la luz y un menor valor de la luminosidad en los productos curados (Fernández-López y col., 2003).

Tabla 22. Parámetros instrumentales de color (L^* , a^* , b^*) a 0, 210 y 360 días en cecina elaboradas a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de materia prima congelada/descongelada (C).

| Días | Luminosidad (L^*) | | Índice de Rojo (a^*) | | Índice de Amarillo (b^*) | |
|------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | R | C | R | C | R | C |
| 0 | ^A 29,69 _b | ^A 30,85 _c | ^A 17,21 _b | ^A 16,86 _b | ^A 14,08 _b | ^A 14,82 _b |
| 210 | ^A 27,14 _{ab} | ^A 26,85 _b | ^B 14,91 _b | ^A 13,05 _{ab} | ^B 11,02 _b | ^A 8,29 _a |
| 360 | ^A 23,96 _a | ^A 20,61 _a | ^B 11,95 _a | ^A 9,28 _a | ^B 8,21 _a | ^A 7,39 _a |

^{a,b,c} Valores medios con diferente letra en la misma columna indican diferencias significativas a lo largo del proceso de elaboración en un lote (Test de Tuckey: $p < 0,05$).

^{A,B} Valores medios con diferente letra en la misma fila indican diferencias significativas entre lotes (Test de Tukey: $p < 0,05$).

Entre lotes, los valores de L^* fueron similares, sin embargo, los valores de a^* y b^* fueron más bajos en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada. Bañón y col. (1999) observaron el mismo comportamiento en jamón elaborado con materia prima refrigerada o congelada.

En el estudio de la influencia de la conservación de la materia prima sobre las características de la cecina (Experimento 1) para el color de la cecina con 210 días de curado, se obtuvieron resultados similares en lo que respecta a a^* y b^* , pero la L^* fue menor en la cecina elaborada con materia prima congelada/descongelada. Hay que tener en cuenta que el contenido de sal en estas cecinas fue considerablemente más alto (Tabla 13), lo que confirma la

Resultados y discusión

influencia de la sal sobre el valor L*, ya que en la cecina mayores concentraciones de sal se relacionaron con un menor valor L*.

La Tabla 23 muestra la evolución de los **parámetros de textura** medidos instrumentalmente: dureza, masticabilidad, elasticidad y cohesividad, desde el día 60 hasta el final del proceso de curado (día 360). Todos estos parámetros aumentaron ($p < 0,05$) a lo largo del procesado, a excepción de la cohesividad que aumentó ($p < 0,05$) hasta el día 180 para posteriormente descender ($p < 0,05$) hasta el final del proceso de elaboración.

Tabla 23. Valores obtenidos en la evaluación instrumental de la textura, desde el día 60 hasta el día 360, en cecina elaborada a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de materia prima congelada/descongelada (C).

| | | <i>Días</i> | | | | | | |
|---------------------------|---|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| | | <i>60</i> | <i>120</i> | <i>180</i> | <i>210</i> | <i>250</i> | <i>300</i> | <i>360</i> |
| Dureza (g) | R | ^A 1614,7 _a | ^B 2032,7 _{ab} | ^A 1467,7 _a | ^B 2032,7 _{ab} | ^B 2135,8 _{ab} | ^B 2970,6 _{bc} | ^B 3642,7 _c |
| | C | ^A 1486,1 _a | ^A 1541,9 _a | ^A 1335,4 _a | ^A 1344,1 _a | ^A 1655,9 _a | ^A 2578,0 _b | ^A 2793,1 _b |
| Masticabilidad (g) | R | ^B 418,4 _{1a} | ^B 792,5 _{abc} | ^A 686,1 _{4ab} | ^B 783,5 _{abc} | ^B 771,2 _{abc} | ^A 1076,9 _{bc} | ^B 1231,8 _c |
| | C | ^A 288,2 _{0a} | ^A 471,8 _{8ab} | ^A 558,3 _{0b} | ^A 466,3 _{0ab} | ^A 574,7 _{6b} | ^A 914,8 _{5c} | ^A 895,3 _{1c} |
| Elasticidad | R | ^A 0,44 _a | ^A 0,53 _b | ^A 0,60 _c | ^A 0,63 _c | ^A 0,65 _{cd} | ^A 0,68 _{cd} | ^A 0,72 _e |
| | C | ^A 0,37 _a | ^A 0,51 _b | ^A 0,58 _{bc} | ^A 0,60 _{bc} | ^A 0,67 _{cd} | ^A 0,66 _{cd} | ^A 0,75 _d |
| Cohesividad | R | ^A 0,59 _{bc} | ^B 0,73 _d | ^A 0,79 _e | ^A 0,61 _c | ^A 0,55 _{abc} | ^A 0,53 _{ab} | ^A 0,45 _a |
| | C | ^A 0,55 _{bc} | ^A 0,60 _c | ^A 0,74 _d | ^A 0,58 _{bc} | ^A 0,52 _b | ^A 0,53 _{bc} | ^A 0,43 _a |

^{a,b,c,d,e}, Valores medios con diferentes subíndices en la misma fila indican diferencias significativas a lo largo del proceso de curado en un lote (Test de Tukey: $p < 0,05$).

^{A,B} Medias con diferente superíndices en la misma columna indican diferencias significativas entre lotes para cada parámetro (Test de Tukey: $p < 0,05$).

Por otro lado, la dureza y la masticabilidad fueron mayores ($p < 0,05$) en las cecinas elaboradas a partir de materia prima refrigerada que en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada. Las diferencias observadas en estos parámetros podrían ser debidas a la mayor actividad proteolítica en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada.

Resultados y discusión

La Tabla 24 muestra los resultados obtenidos en el **análisis sensorial descriptivo**, realizado con un panel de catadores entrenados, en los dos lotes de cecina estudiados, a los 360 días de curado.

Tabla 24. Puntuaciones obtenidas en el análisis sensorial realizado con catadores entrenados en la cecina elaborada a partir de materia prima refrigerada (R) y a partir de materia prima congelada/descongelada (C), a los 360 días (1-intensidad mínima, 5-intensidad máxima).

| | R | C |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Homogeneidad del color | ^A 3,29 | ^A 3,47 |
| Intensidad de color | ^A 3,63 | ^A 3,94 |
| Presencia de veteado | ^A 2,85 | ^A 2,88 |
| Color de la grasa | ^A 1,31 | ^A 1,52 |
| Grasa intermuscular | ^A 2,25 | ^A 2,35 |
| Intensidad de olor | ^A 3,06 | ^B 3,83 |
| Dureza | ^A 2,94 | ^A 3,03 |
| Masticabilidad | ^B 3,00 | ^A 2,35 |
| Jugosidad | ^A 2,31 | ^B 3,42 |
| Pastosidad | ^A 2,81 | ^A 2,43 |
| Intensidad de flavor | ^A 3,00 | ^B 4,15 |
| Persistencia del flavor | ^A 2,93 | ^B 3,80 |

^{A,B} Medias con diferente letra en la misma fila indican diferencias significativas entre lotes (Test de Tuckey: $p < 0,05$).

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los dos tipos de cecina en la **homogeneidad e intensidad del color, presencia de veteado, color amarillo de la grasa y presencia de grasa intermuscular**. Sin embargo, la **intensidad de olor** fue mayor ($p < 0,05$) en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada. Este resultado, podría deberse a que este lote presentó una mayor actividad proteolítica, lo que pudo generar compuestos volátiles responsables del aroma.

Por otro lado, entre los lotes estudiados, no se encontraron diferencias ($p > 0,05$) en los parámetros de **dureza y pastosidad**. Sin embargo, Flores y col.

(2008) encontraron una mayor pastosidad y dureza en jamones elaborados a partir de materia prima congelada/descongelada. La **jugosidad**, la **intensidad y la persistencia del flavor** fueron mayores en las cecinas elaboradas a partir de materia prima congelada/descongelada, las cuales presentaron menores valores ($p < 0,05$) de masticabilidad.

2.1.2.6. Resumen

El estudio de la influencia de la utilización de materia prima refrigerada o congelada/descongelada, en el desarrollo de las características microbiológicas, fisico-químicas y sensoriales de la Cecina de León mostró modificaciones en los mismos.

La cecina elaborada a partir de materia prima congelada presentó mayores recuentos microbianos en la etapa de post-salado. Posteriormente, después de la etapa de ahumado hasta el final del proceso de elaboración, no se encontraron diferencias ($p > 0,05$) en los recuentos microbianos entre las cecinas elaboradas a partir de materia prima refrigerada y de materia prima congelada/descongelada.

Respecto a los parámetros fisicoquímicos, pH y a_w mostraron una tendencia similar en ambos lotes, de manera que el pH aumentó ligeramente ($p < 0,05$) y la a_w disminuyó ($p < 0,05$) a lo largo del proceso de elaboración. A pesar de la disminución en el tiempo de salado, el contenido en sal en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada fue mayor ($p < 0,05$) a lo largo de todo el proceso de elaboración. También se observó un mayor contenido de NP y NA a lo largo de todo el proceso de elaboración en este tipo de cecina. La evolución de las fracciones nitrogenadas fue similar en ambos lotes a lo largo del proceso de elaboración, aumentando progresivamente el NNP y el NA, mientras que el NP aumentó al comienzo de la maduración, para posteriormente disminuir.

En cuanto a las características sensoriales, se encontraron diferencias tanto en las medidas instrumentales como en las realizadas con catadores entrenados. En relación con el color, los valores de a^* y b^* , fueron menores para la cecina elaborada con materia prima congelada/descongelada. En lo que respecta a la textura, todos los parámetros aumentaron a lo largo del proceso de elaboración a excepción de la cohesividad que aumentó hasta los 180 días para

Resultados y discusión

posteriormente disminuir hasta el final del proceso. Sí se encontraron diferencias significativas entre los dos tipos de cecina en los valores de dureza y masticabilidad, siendo menores en la cecina elaborada a partir de materia prima congelada/descongelada. En el análisis con catadores entrenados, no se encontraron diferencias en los aspectos visuales (homogeneidad e intensidad del color, contenido en grasa intramuscular e intermuscular y color de la grasa), ni en la dureza ni en la pastosidad; sin embargo la cecina elaborada a partir de materia prima congelada /descongelada presentó valores más altos en la intensidad de olor, la jugosidad y la intensidad y persistencia de flavor. Estos resultados concuerdan con la mayor actividad proteolítica observada, que probablemente dio lugar a una mayor liberación de compuestos volátiles responsables del aroma y sabor.

2.2. INFLUENCIA DE LA UTILIZACIÓN DE AGENTES DE CURADO

En esta parte de la Tesis, el objetivo fue evaluar los efectos de la utilización de diferentes agentes de curado en las propiedades microbiológicas, físico-químicas y sensoriales de la Cecina de León. Con esta finalidad, a partir de 36 piezas de babilla frescas, se elaboraron tres lotes de cecina, uno de ellos sólo con sal (lote control), otro con 150 ppm de nitratos y 150 ppm de nitritos (lote con nitratos y nitritos) y un tercer lote con 300 ppm de nitratos (lote con nitratos) (experimento 3).

2.2.1 Características microbiológicas

En las Figuras 27 y 28 se muestra la evolución de la flora microbiana estudiada durante el proceso de elaboración de los tres lotes de cecina.

La evolución de las **bacterias aerobias mesófilas**, las **bacterias micrococáceas** y las **bacterias ácido lácticas (BAL)**, mostró un comportamiento similar en los tres grupos de cecina estudiados. Los recuentos de estos microorganismos aumentaron, respecto de los presentes en la materia prima, hasta el día 120, permaneciendo estables hasta el final del procesado. Por el contrario, los recuentos de **enterobacterias** disminuyeron con el tiempo de procesado hasta valores por debajo del límite de detección (1 lg ufc/g) a partir de los 120 días. Entre los lotes de cecina estudiados, no se encontraron

Resultados y discusión

diferencias significativas ($p > 0,05$) para ninguno de los microorganismos evaluados.

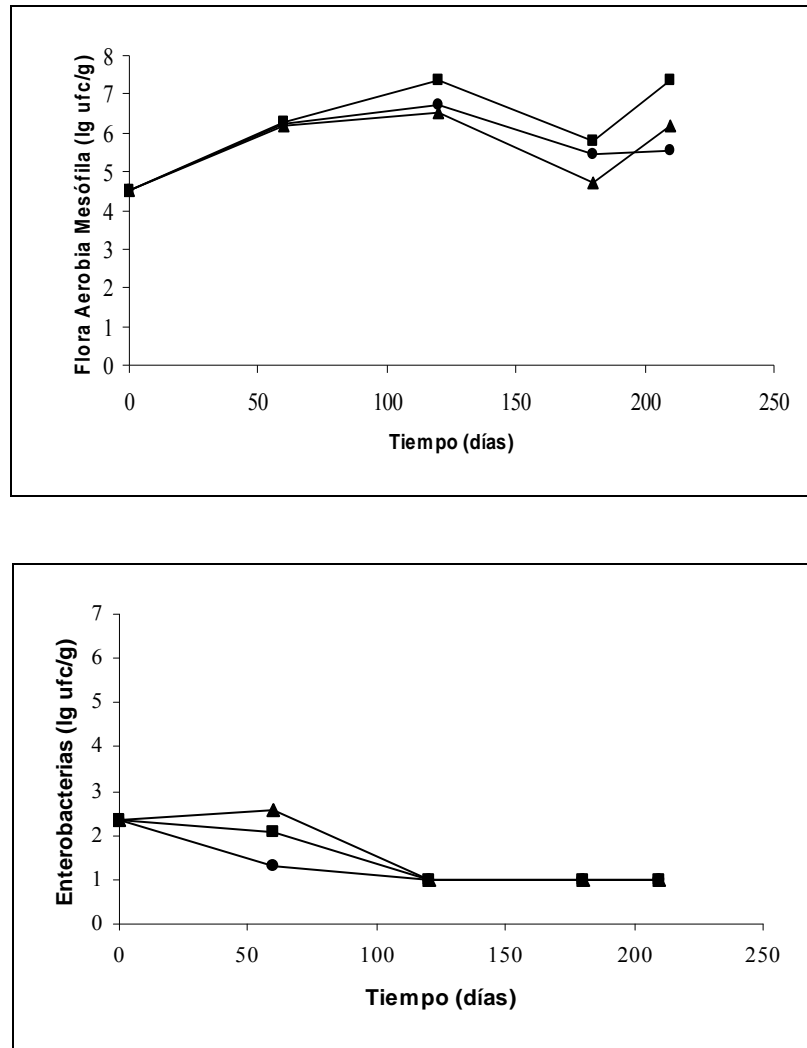


Figura 27. Evolución de las bacterias aerobias mesófilas y de las enterobacterias durante la elaboración de los diferentes lotes de cecina: (■) elaborada con sal (Lote A), (▲) elaborada con sal y nitratos (Lote B) y (●) elaborada con sal, nitratos y nitritos (Lote C).

Resultados y discusión

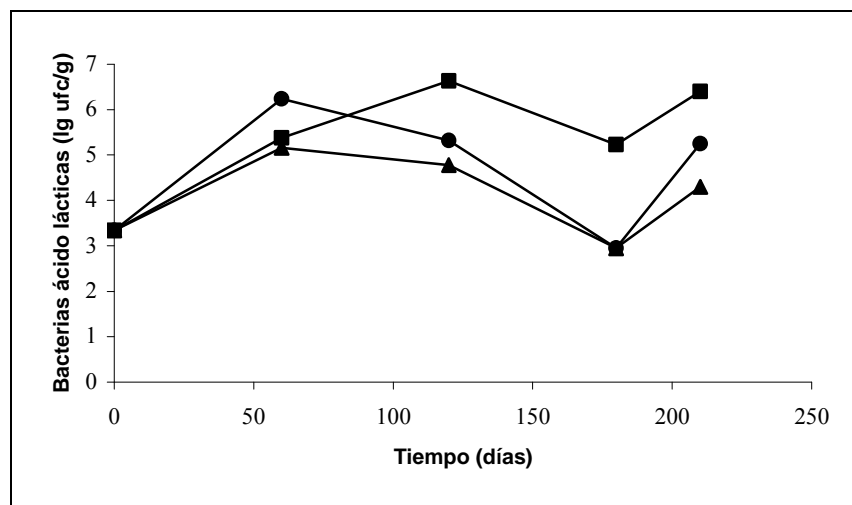
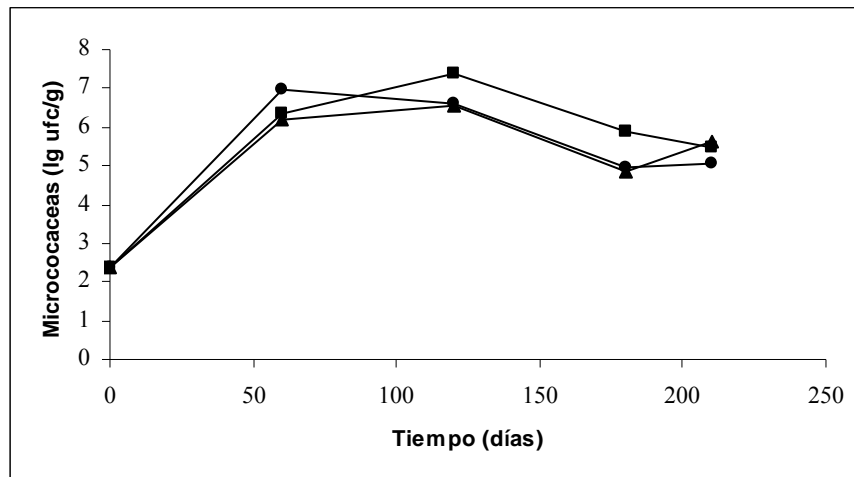


Figura 28. Evolución de las micrococaceas y de las bacterias ácido lácticas durante la elaboración de los diferentes lotes de cecina: (■) elaborada con sal (Lote A), (▲) elaborada con sal y nitratos (Lote B) y (●) elaborada con sal, nitratos y nitritos (Lote C).

Las micrococaceas y las BAL constituyen la flora predominante en la cecina, como ya se ha comentado en el apartado 2.1.2. Es bien sabido que estos

microorganismos juegan un papel importante en el desarrollo de las características finales del producto. Autores como Geisen y col. (1992) y Hammes y Knauf (1994) han indicado que las micrococáceas y las BAL reducen el nitrato presente hasta nitrito debido a su actividad nitrato reductasa, lo que contribuye al desarrollo del color y aroma típicos de los productos curados, a la vez que previene la rancidez oxidativa (Flores y Toldrá, 1993).

2.2.2 Características físico-químicas

La Tabla 25 muestra la evolución del pH, de la a_w y del contenido de humedad, durante el proceso de elaboración de los tres grupos de cecina estudiados.

Tabla 25. Evolución del pH, a_w y humedad (%) durante el proceso de elaboración de los tres lotes de cecina: elaborada con sal (Lote A), con sal y nitrato (Lote B) y con sal, nitrato y nitrito (Lote C).

| | | Días | | | | | | | |
|---------|---|--------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| | | 0 | 60 | 120 | 180 | 210 | 250 | 300 | 360 |
| pH | A | 5,60 _{ab} | ^A 5,53 _a | ^A 5,65 _{ab} | ^A 5,76 _{ab} | ^A 5,75 _{ab} | ^A 5,88 _b | ^A 5,72 _{ab} | ^A 5,71 _{ab} |
| | B | 5,60 _a | ^{AB} 5,65 _a | ^A 5,71 _a | ^A 5,76 _a | ^A 5,77 _a | ^A 5,87 _a | ^A 5,84 _a | ^A 5,74 _a |
| | C | 5,60 _a | ^B 5,69 _a | ^A 5,69 _a | ^A 5,82 _a | ^A 5,79 _a | ^A 5,89 _a | ^A 5,79 _a | ^A 5,81 _a |
| a_w | A | 0,993 _g | ^B 0,965 _f | ^B 0,952 _e | ^B 0,916 _c | ^B 0,929 _d | ^A 0,914 _c | ^A 0,899 _b | ^A 0,889 _a |
| | B | 0,993 _f | ^A 0,959 _e | ^A 0,947 _d | ^A 0,909 _b | ^A 0,924 _c | ^A 0,913 _b | ^C 0,910 _b | ^B 0,896 _a |
| | C | 0,993 _g | ^B 0,966 _f | ^B 0,955 _e | ^B 0,919 _c | ^C 0,935 _d | ^A 0,919 _c | ^B 0,905 _b | ^A 0,886 _a |
| Humedad | A | 74,35 _h | ^A 67,60 _g | ^A 64,83 _f | ^B 56,10 _d | ^B 59,64 _e | ^A 55,15 _c | ^A 49,51 _a | ^B 53,12 _b |
| | B | 74,35 _g | ^A 67,16 _f | ^B 65,30 _e | ^A 55,61 _c | ^A 58,06 _d | ^A 53,25 _b | ^B 54,75 _c | ^A 52,59 _a |
| | C | 74,35 _g | ^B 68,93 _f | ^A 64,80 _e | ^C 56,70 _c | ^B 59,95 _d | ^A 54,80 _b | ^B 52,85 _a | ^{AB} 52,22 _a |

^{a,b,c,d,e,f,g,h} Medias con diferentes letras en la misma fila indica diferencias significativas a lo largo del proceso de elaboración de la cecina (Test de Tukey: $p < 0,05$).

^{A,B,C} Medias con diferentes letras en la misma columna y para cada parámetro indica diferencias significativas entre lotes (Test de Tukey: $p < 0,05$).

A lo largo de proceso de curado, el pH de los tres lotes de cecina permaneció constante ($p > 0,05$), y para este parámetro no se encontraron

Resultados y discusión

diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tres lotes. La a_w y el **contenido de humedad** disminuyeron progresivamente ($p < 0,05$) a lo largo del proceso de elaboración de la cecina en los tres lotes. Este comportamiento fue debido tanto al efecto de la incorporación de la sal como a la deshidratación que se produce a lo largo del proceso de curado.

Entre lotes, en algunos de los tiempos de muestreo se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,05$) para estos dos parámetros, sin embargo, estas diferencias no permitieron establecer tendencias claras para ninguno de los lotes. Cabe destacar que a los 360 días de elaboración, los valores de a_w fueron cercanos a los valores que permiten garantizar la seguridad microbiológica del producto ($a_w < 0,85$) en ausencia de nitrito (Chawla y Chander, 2004).

En la Tabla 26 se muestran los resultados obtenidos para el contenido de cloruros (NaCl), de nitrito y de nitrato durante el proceso de elaboración de los tres grupos de cecina estudiados.

Tabla 26. Evolución del NaCl (% materia seca), nitrato (ppm) y nitrito (ppm) durante el proceso de elaboración de los tres lotes de cecina: elaborada con sal (Lote A), con sal y nitrato (Lote B) y con sal, nitrato y nitrito (Lote C).

| | | Días | | | | | | | |
|----------------|----------|-------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| | | 0 | 60 | 120 | 180 | 210 | 250 | 300 | 360 |
| | A | 0,45 _a | ^A 8,41 _b | ^B 12,03 _{de} | ^{AB} 12,90 _{ef} | ^A 11,34 _d | ^B 13,58 _f | ^C 23,97 _g | ^A 10,03 _c |
| NaCl | B | 0,45 _a | ^B 10,97 _b | ^A 11,13 _{bc} | ^A 12,35 _d | ^B 14,42 _e | ^A 12,16 _{cd} | ^A 14,25 _e | ^B 11,35 _{bcd} |
| | C | 0,45 _a | ^A 8,19 _b | ^B 12,03 _{cd} | ^B 13,41 _e | ^B 13,91 _e | ^A 11,79 _c | ^B 18,42 _f | ^C 12,49 _d |
| | A | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Nitrito | B | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | C | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | A | <20 | <20 | <20 | <20 | <20 | <20 | <20 | <20 |
| Nitrato | B | <20 | ^A 92 _a | ^A 85 _a | ^A 101 _a | ^A 82 _a | ^A 84 _a | ^A 96 _a | ^A 112 _a |
| | C | <20 | ^A 67 _a | ^A 63 _a | ^A 85 _{ab} | ^A 84 _{ab} | ^A 79 _{ab} | ^A 104 _{ab} | ^A 132 _b |

^{a,b,c,d,e,f,g} Medias con diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas a lo largo del proceso de elaboración de la cecina (Test de Tukey: $p < 0,05$).

^{A,B,C} Medias con diferentes letras en la misma columna y para cada parámetro indica diferencias significativas entre lotes (Test de Tukey: $p < 0,05$). ND: no detectado.

Como puede observarse, el proceso de elaboración implicó un aumento progresivo del contenido en **NaCl** ($p < 0,05$), siendo los valores obtenidos en el producto final similares a los encontrados por otros autores también en cecina (García y col., 1995; Molinero y col., 2008).

En ninguno de los tres grupos de cecina se detectaron **nitritos** a lo largo del proceso de elaboración. Una rápida desaparición del nitrito fue observada también por Aksu y col. (2005) en “pastirma” y por Arnau y col. (1995) en jamón curado. Estos resultados pueden ser debidos a que el nitrito es altamente reactivo al pH que presenta la carne (5,5-6,5) (Marco y col., 2006; Sebranek y Fox, 1985). A estos valores de pH, el nitrito se transforma rápidamente en otros compuestos intermedios (N_2O_3 , NOCl, HNO_2) los cuales generan, a su vez, una amplia variedad de compuestos tales como el óxido nítrico, el ácido nitroso y el nitrato (Honikel, 2004). Por ello, en los productos cárnicos curados cuya elaboración conlleva procesos lentos de secado, como es el caso de la cecina, esta rápida evolución del nitrito no permitiría, por sí solo, el desarrollo de las características típicas del producto (Flores, 1997).

En lo que respecta al contenido de **nitrito**, los valores obtenidos en el lote elaborado con sal (Lote A) fueron < 20 ppm a lo largo de todo el proceso de elaboración. En los lotes elaborados con adición de nitrato (Lotes B y C) este parámetro permaneció constante a partir de los 60 días. Cabe destacar que, a pesar de la diferencia en las cantidades iniciales adicionadas (300 ppm en el lote B y 150 ppm en el lote C), entre ambos lotes no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$), siendo los resultados obtenidos en el producto final acordes con los límites legales establecidos (BOE, 2007).

2.2.3. Características sensoriales

En la Tabla 27 se muestran los resultados obtenidos en la evaluación instrumental del color (luminosidad- L^* , índice de rojo- a^* e índice de amarillo- b^*). Esta evaluación se realizó, en los tres lotes de cecina estudiados, en los días 210 y 360 de procesado ya que, de acuerdo con el Reglamento de la IGP “Cecina de León”, 210 días (7 meses) es el tiempo mínimo de procesado de la cecina para su salida al mercado. Por otro lado, en el experimento 2 de esta

Resultados y discusión

Tesis (apartado 2.1.2.3) se había observado que la cecina tras los 210 días de procesado continúa experimentando cambios en sus fracciones proteicas y lipídicas y, por tanto, probablemente en sus características sensoriales. Es por ello, por lo que se ha considerado adecuado comparar las características sensoriales de la cecina tanto en su tiempo mínimo de curado como en un tiempo de curado más amplio.

Tabla 27. Medida instrumental de los parámetros de color a los 210 y 360 días de procesado en los tres lotes de cecina: elaborada con sal (Lote A), con sal y nitrato (Lote B) y con sal, nitrato y nitrito (Lote C).

| | Días | Lotes | | |
|-----------|------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| | | A | B | C |
| L* | 210 | ^A 22,95±1,72 _a | ^B 27,11±1,44 _a | ^A 22,63±5,13 _a |
| | 360 | ^A 23,02±2,86 _a | ^A 23,33±1,82 _a | ^A 24,40±3,13 _a |
| a* | 210 | ^A 10,32±4,19 _a | ^A 13,04±4,11 _a | ^A 12,98±3,98 _a |
| | 360 | ^A 14,74±3,92 _a | ^A 13,88±1,87 _a | ^A 15,09±5,42 _a |
| b* | 210 | ^A 7,77±4,52 _a | ^A 7,83±4,20 _a | ^A 8,53±3,30 _a |
| | 360 | ^A 8,61±2,11 _a | ^A 10,36±1,76 _a | ^A 7,10±3,30 _a |

^{A,B} Medias con diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre lotes (Test de Tukey $p < 0,05$).

^a Medias con diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre tiempos de maduración (Test de Tukey $p < 0,05$).

Los resultados muestran que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) para **L**, **a*** y **b*** ni entre los dos tiempos de procesado evaluados (210 y 360 días de curado) ni entre los 3 lotes estudiados. En principio, este resultado es llamativo, ya que los lotes de cecina elaborados con adición de nitrito y/o nitrato (Lotes B y C) deberían presentar un mayor valor del índice de rojo (**a***) que el lote elaborado con sal. El óxido nítrico (NO) que se produce a partir del nitrato y del nitrito, reacciona con el Fe de la mioglobina y de la metamioglobina, generando un pigmento, la nitrosilmioglobina, responsable del color rojo de los productos curados. Además, el NO también puede reaccionar

con el NaCl presente en el producto y generar NOCl, compuesto que favorece el desarrollo del color en la carne curada. Sin embargo, en estudios recientes (Zhang y col., 2007) se ha comprobado que también es posible la formación de nitrosilmioglobina en productos fermentados, en ausencia de nitrato o de nitrito, debido a la presencia de bacterias del género *Lactobacillus*. Por otro lado, productos elaborados tradicionalmente sin adición de nitratos o nitritos, como el jamón de Parma, presentan un color rojo estable que es debido a la formación de un pigmento, la Zn-protoporfirina IX, en el cual el Fe hemo es sustituido por Zn (Wakamatsu y col., 2004). Por tanto, la formación de nitrosilmioglobina a través del metabolismo microbiano o la formación de otro pigmento como la Zn-protoporfirina IX podrían ser los responsables de la ausencia de diferencias en el color medido instrumentalmente entre los lotes de cecina elaborados sin o con nitritos y/o nitratos.

Sí se encontraron diferencias en el color en la evaluación realizada con un **panel entrenado** (Tabla 28), siendo menor la **intensidad de color** en el lote elaborado con sal a los 210 días. Sin embargo, estas diferencias no fueron significativas a los 360 días puesto que este parámetro experimentó un aumento significativo ($p < 0,05$) desde el día 210 al 360. El análisis estadístico realizado, también mostró diferencias en la **homogeneidad de color** entre el lote elaborado con sal y el lote elaborado con sal, nitrato y nitrito, no obstante las puntuaciones obtenidas en ambos lotes se encontraban en el rango normal en este producto.

En el resto de parámetros evaluados (**intensidad de olor, dureza, masticabilidad, pastosidad, intensidad y persistencia de flavor**) en la prueba descriptiva (Tabla 28), no se detectaron diferencias ($p > 0,05$) ni entre los tres lotes de cecina ni entre los dos tiempos de procesado.

Por otro lado, los resultados obtenidos en la **prueba triangular** mostraron que, tras 210 días de curado, los consumidores eran capaces de diferenciar ($p < 0,05$) entre el lote de cecina elaborado con sal y los lotes de cecina elaborados con sal, nitritos y/o nitratos, siendo el color el principal parámetro que permitía diferenciar entre los lotes. Sin embargo, las **pruebas de ordenación** demostraron que los consumidores no mostraban preferencia ($p > 0,05$) por ninguno de los tres lotes de cecina evaluados.

Resultados y discusión

Tabla 28. Puntuaciones de los parámetros sensoriales evaluados en los tres lotes de cecina: elaborada con sal (Lote A), con sal y nitrato (Lote B) y con sal, nitrato y nitrito (Lote C) a los 210 y 360 días (1-valor mínimo, 5-valor máximo).

| | Días | Lotes | | |
|--------------------------------|------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| | | A | B | C |
| Homogeneidad de color | 210 | ^A 2,18±0,42 _a | ^A 2,73±0,73 _a | ^A 2,96±0,65 _a |
| | 360 | ^B 3,83±0,47 _b | ^{AB} 3,34±0,68 _a | ^A 3,14±0,27 _a |
| Intensidad de color | 210 | ^A 2,41±0,45 _a | ^{AB} 2,98±0,85 _a | ^B 3,63±0,46 _a |
| | 360 | ^A 3,71±0,49 _b | ^A 3,69±0,68 _a | ^A 3,37±0,37 _a |
| Intensidad de olor | 210 | ^A 3,36±0,75 _a | ^A 3,24±0,74 _a | ^A 3,21±0,49 _a |
| | 360 | ^A 2,79±0,64 _a | ^A 3,33±0,83 _a | ^A 3,19±0,81 _a |
| Dureza | 210 | ^A 1,64±0,63 _a | ^A 1,40±0,42 _a | ^A 1,58±0,52 _a |
| | 360 | ^B 3,76±0,38 _b | ^A 2,90±0,54 _b | ^A 2,80±0,70 _b |
| Masticabilidad | 210 | ^A 2,31±0,66 _a | ^A 1,80±0,68 _a | ^A 1,97±0,51 _a |
| | 360 | ^A 2,66±0,62 _a | ^A 2,39±0,79 _a | ^A 2,93±0,36 _a |
| Jugosidad | 210 | ^A 3,21±0,64 _a | ^A 3,05±0,78 _a | ^A 3,07±0,67 _a |
| | 360 | ^{AB} 2,69±0,83 _a | ^B 3,49±0,86 _a | ^A 2,26±0,60 _a |
| Pastosidad | 210 | ^A 2,64±0,63 _a | ^A 2,09±0,57 _a | ^A 2,09±0,73 _a |
| | 360 | ^A 2,76±0,48 _a | ^A 2,16±0,46 _a | ^A 2,46±0,81 _a |
| Intensidad del flavor | 210 | ^A 3,21±0,73 _a | ^A 3,34±0,56 _a | ^A 3,31±0,65 _a |
| | 360 | ^A 3,57±0,67 _a | ^A 4,04±0,21 _a | ^A 3,79±0,49 _a |
| Persistencia del flavor | 210 | ^A 3,14±0,85 _a | ^A 2,98±0,76 _a | ^A 3,46±0,46 _a |
| | 360 | ^A 3,54±0,64 _a | ^A 3,86±0,24 _a | ^A 3,50±0,70 _a |

^{a,b} Medias con diferentes letras en la misma columna y para cada parámetro indican diferencias significativas entre tiempos de maduración (Test de Tuckey: $p < 0,05$).

^{A,B,C} Medias con diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre lotes (Test de Tuckey: $p < 0,05$).

2.2.4. Resumen

Los resultados obtenidos indican que el empleo de diferentes agentes curado (sal; sal y nitrato; sal, nitrato y nitrito) no implica diferencias en los parámetros microbiológicos, físico-químicos y en el color evaluado instrumentalmente. El análisis realizado con panel de catadores muestra diferencias en la intensidad de color en las muestras procesadas durante 210 días. Por ello, la adición de

nitrito, individualmente o junto con nitrito, no modifica de forma apreciable las características de la cecina.

No obstante, si se elabora cecina sin la incorporación de agentes de curado, tanto para obtener unas buenas características respecto al color como una actividad de agua que garantice la seguridad microbiológica del producto es conveniente un periodo de maduración largo (360 días).

2.3. INFLUENCIA DEL TIEMPO DE CURADO

Dado que uno de los objetivos planteados en esta Tesis fue mejorar las propiedades de la cecina, se estudió como afectaba a las características de la cecina la prolongación de la maduración, y los procesos que tenían lugar durante la misma. Para ello, se utilizaron 12 babillas frescas que se procesaron con diferentes tiempos de curación: 7, 9 y 12 meses (210, 270 y 360 días) (experimento 4).

2.3.1. Características microbiológicas

La Tabla 29 muestra los recuentos de FAMV, micrococaceas, BAL y enterobacterias para las cecinas elaboradas con distintos tiempos de curación.

Tabla 29. Recuentos microbianos (lg ufc/g) (media \pm desviación estándar) en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación.

| Días | FAMV | Micrococaceas | BAL | Enterobacterias |
|------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------|
| 210 | 4,05 \pm 0,06 _c | 3,72 \pm 0,09 _c | 3,17 \pm 0,06 _c | ND |
| 270 | 3,82 \pm 0,12 _b | 3,40 \pm 0,01 _b | 3,07 \pm 0,04 _b | ND |
| 360 | 3,64 \pm 0,10 _a | 3,15 \pm 0,13 _a | 2,99 \pm 0,02 _a | ND |

FAMV: flora aerobia mesófila, BAL: bacterias ácido lácticas ND: no detectado

^{a,b,c} Medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren significativamente (Test de Tukey, $p < 0,05$).

Entre los días 210 y 360, los recuentos de **FAMV**, **micrococaceas** y **BAL** disminuyeron progresivamente ($p < 0,05$), posiblemente debido al efecto inhibidor que ejerce el descenso de la a_w sobre la flora microbiana (Vilar y col., 2000). Así, en este estudio se han encontrado correlaciones significativas y

Resultados y discusión

positivas entre la a_w y los recuentos de FAMV ($r=0,60$, $p<0,05$), micrococáceas ($r=0,94$, $p<0,05$) y BAL ($r=0,88$, $p<0,05$); también se han encontrado correlaciones significativas y positivas entre el contenido de humedad y FAMV ($r=0,78$, $p<0,05$), micrococáceas ($r=0,90$, $p<0,05$) y BAL ($r=0,83$, $p<0,05$). En general, los recuentos obtenidos para estos microorganismos coinciden con los encontrados en los apartados anteriores de la tesis, siendo menores que los observados por Rubio y col. (2007) para Cecina de León con un tiempo de curación de 11 meses.

Por otro lado, los recuentos de **enterobacterias** se situaron por debajo del límite de detección en los tres tiempos de curación evaluados.

2.3.2. Características físico-químicas

La Tabla 30 muestra los valores de pH, a_w , y el contenido de humedad en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación. Los valores de **pH** permanecieron constantes ($p>0,05$). La a_w y el **contenido en humedad** descendieron ($p<0,05$) progresivamente al aumentar el tiempo de curado desde 210 a 360 días. Los resultados obtenidos para el pH y la a_w a los 360 días de maduración fueron similares a los descritos en los apartados anteriores de la tesis y a los encontrados por Rubio y col. (2007) en Cecina de León con un tiempo de curado de 11 meses ($pH=5,85$ y $a_w=0,878$).

Tabla 30. Valores (media \pm desviación estándar) del pH, a_w y contenido de humedad (%) en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación.

| Días | pH | a_w | Humedad |
|------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| 210 | 5,95 \pm 0,11 _a | 0,930 \pm 0,001 _c | 60,14 \pm 0,20 _c |
| 270 | 5,86 \pm 0,12 _a | 0,898 \pm 0,003 _b | 51,30 \pm 0,10 _b |
| 360 | 5,84 \pm 0,03 _a | 0,874 \pm 0,001 _a | 50,11 \pm 0,68 _a |

^{a,b,c} Medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren significativamente (Test de Tukey, $p<0,05$).

Respecto al contenido en **grasa, proteína, NaCl, azúcares e hidroxiprolina** (Tabla 31), como era de esperar, en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación no se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$).

Tabla 31. Valores (media \pm desviación estándar) del contenido de grasa, proteína, NaCl, azúcares e hidroxiprolina (% sobre extracto seco) en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación.

| Días | Grasa | Proteína | NaCl | Azúcares | Hidroxiprolina |
|------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| 210 | 15,23 \pm 0,71 _a | 68,98 \pm 1,07 _a | 14,35 \pm 0,04 _a | 0,60 \pm 0,18 _a | 0,25 \pm 0,004 _a |
| 270 | 16,03 \pm 0,20 _a | 66,12 \pm 3,17 _a | 14,60 \pm 0,03 _a | 0,70 \pm 0,25 _a | 0,24 \pm 0,003 _a |
| 360 | 16,17 \pm 0,72 _a | 69,05 \pm 0,64 _a | 15,01 \pm 0,71 _a | 0,47 \pm 0,10 _a | 0,24 \pm 0,030 _a |

^a Medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren significativamente. (Test de Tukey, $p < 0,05$).

2.3.3. Evaluación de la proteólisis y de la lipólisis

La Tabla 32 muestra, para las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación, los resultados obtenidos en la evaluación del nitrógeno no proteico (NNP), del nitrógeno aminoacídico (NA) y del nitrógeno peptídico (NP), parámetros relacionados con la proteólisis.

Tabla 32. Valores (media \pm desviación estándar) del nitrógeno no proteico (NNP), del nitrógeno aminoacídico (NA) y del nitrógeno peptídico (NP) en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación.

| Días | Parámetros relacionados con la proteólisis ¹ | | |
|------|---|---------------------------------|--------------------------------|
| | NNP | NA | NP |
| 210 | 1377,54 \pm 4,13 _a | 523,63 \pm 7,02 _a | 344,65 \pm 9,24 _c |
| 270 | 1462,28 \pm 18,87 _b | 534,18 \pm 2,10 _a | 289,24 \pm 8,45 _b |
| 360 | 1479,75 \pm 28,57 _b | 653,33 \pm 29,30 _b | 261,64 \pm 1,77 _a |

¹: Expresado como mg nitrógeno/100 g extracto seco.

^{a,b,c} Medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren significativamente (Test de Tukey, $p < 0,05$).

Los resultados indicaron que el contenido de **NNP** y de **NA** fue mayor ($p < 0,05$) en las piezas con mayor tiempo de curación, mientras que el contenido de **NP** fue menor ($p < 0,05$). Además, se observó una correlación negativa entre NA y NP ($r = -0,77$, $p < 0,05$). Los resultados obtenidos para NNP y NA en este estudio fueron superiores a los obtenidos en cecina por García y col. (1997).

Resultados y discusión

Esto se puede deber a que el tiempo de curado de la cecina en dicho estudio fue más corto (153 días frente a los 360 días de este estudio).

La Tabla 33 muestra los resultados obtenidos en la evaluación de los parámetros relacionados con la evolución de la lipólisis: **lípidos neutros** (LN), **fosfolípidos** (PL) y **ácidos grasos libres** (AGL), para las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación.

Los valores de la fracción lipídica mostraron un descenso ($p<0,05$) en los LN y en los PL y un aumento ($p<0,05$) en el contenido de AGL con el tiempo de maduración. De hecho, en este estudio se ha encontrado una correlación negativa entre LN y AGL ($r=-0,78$, $p<0,05$) y PL con AGL ($r=-0,97$, $p<0,05$) y una correlación positiva entre LN y PL ($r=0,69$, $p<0,05$). En el experimento 2 (apartado 2.1.2 de la Tesis) se describe una evolución similar de estos tres parámetros, aunque en este caso, el descenso en la fracción PL todavía fue más acusado.

Tabla 33. Valores (media \pm desviación estándar) de los lípidos neutros (LN), de los ácidos grasos libres (AGL) y de fosfolípidos (PL) en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación.

| Días | Parámetros relacionados con la lipólisis ¹ | | |
|------|---|-------------------------------|------------------------------|
| | LN | AGL | PL |
| 210 | 78,93 \pm 0,66 _b | 12,60 \pm 0,30 _a | 8,46 \pm 0,37 _c |
| 270 | 79,29 \pm 0,07 _b | 13,10 \pm 0,10 _b | 7,61 \pm 0,02 _b |
| 360 | 77,73 \pm 0,16 _a | 16,06 \pm 0,04 _c | 6,21 \pm 0,11 _a |

^{a,b} Medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren significativamente (Test de Tukey, $p<0,05$).

¹: Expresado como % de ácidos grasos de cada fracción respecto del total de los ácidos grasos.

Hasta el momento, no se ha encontrado ningún trabajo que haya estudiado las fracciones lipídicas de la cecina. Sí se ha descrito una tendencia similar en la evolución de estas fracciones en jamón francés (Buscailhon y col., 1994) con un tiempo de curado de 179 a 273 días y, en jamón blanco con un tiempo de curado de 15 meses (Motilva y col., 1993).

Los resultados obtenidos, sugieren que tanto la proteólisis como la lipólisis continúan después de los 210 días de curado de la cecina y podrían jugar un papel importante en el desarrollo de las características sensoriales y en la modificación de la textura de la cecina. Modificaciones en las propiedades sensoriales del jamón con la prolongación del curado, fueron observadas por Cilla (2005) en un estudio en el que se evaluó el incremento del tiempo de curado a 26 meses.

2.3.4. Electroforesis SDS-PAGE

En la Figura 29 se muestra la separación de las proteínas miofibrilares extraídas de cecinas con 210, 270 y 360 días de curado, obtenida mediante electroforesis en geles de policrilamida con SDS. Las proteínas y péptidos fueron identificados en base a su peso molecular, por comparación con estándares de peso molecular conocido.

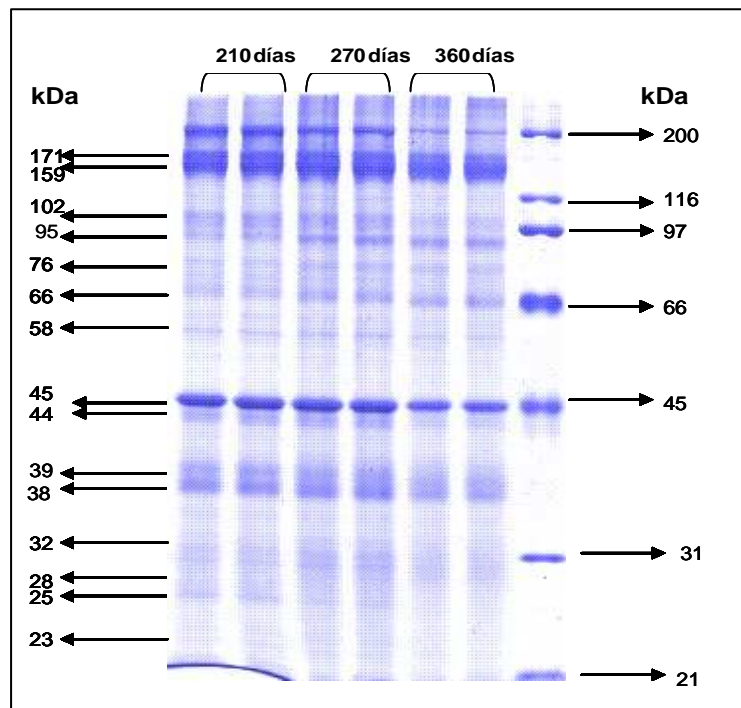


Figura 29.-Electroforesis SDS-PAGE de las proteínas miofibrilares extraídas de cecinas con diferente tiempo de curación (líneas 1 y 2: 210 días; líneas 3 y 4: 270 días; líneas 5 y 6: 360 días y línea 7: patrones de pesos moleculares conocidos).

Resultados y discusión

En la Tabla 34 se muestran los resultados obtenidos en la cuantificación de las proteínas más importantes separadas en la electroforesis.

Tabla 34. Cantidad relativa* de las proteínas miofibrilares, en cecinas con diferente tiempo de curación), separadas en gel de poliacrilamida con SDS.

| PM (kDa) | Días | | |
|----------|------------|------------|------------|
| | 210 | 270 | 360 |
| 200 | 16,19±0,69 | 11,67±0,63 | 7,27±0,87 |
| 171 | 11,55±1,28 | 9,68±1,80 | 7,99±0,19 |
| 159 | 20,81±2,25 | 23,25±0,76 | 30,36±4,38 |
| 116 | - | 0,34±0,06 | 0,35±0,02 |
| 102 | 2,28±0,42 | 2,29±0,26 | 1,83±0,63 |
| 97 | 0,52±0,10 | 0,72±0,15 | 0,23±0,12 |
| 95 | 1,37±0,18 | 4,19±0,72 | 4,86±0,77 |
| 76 | 1,62±0,18 | 2,28±0,38 | 1,79±0,24 |
| 66 | 1,81±0,07 | 3,86±0,12 | 4,19±0,13 |
| 58 | 1,46±0,11 | 1,51±0,15 | 1,47±0,43 |
| 45 | 29,59±4,58 | 27,40±0,28 | 25,94±1,45 |
| 44 | 4,11±0,27 | 4,13±0,10 | 3,55±0,16 |
| 39 | 3,15±0,15 | 2,81±0,13 | 2,60±0,31 |
| 38 | 3,08±0,11 | 3,87±0,11 | 1,97±0,43 |
| 32-30 | 1,20±0,14 | 1,50±0,21 | 0,99±0,01 |
| 28 | 1,00±0,28 | 1,70±0,14 | 0,60±0,34 |
| 25 | 0,54±0,26 | 0,78±0,20 | - |
| 23 | 0,59±0,01 | 0,23±0,03 | 0,14±0,04 |

*: % respecto a la densidad óptica global de la línea correspondiente a cada punto de muestreo.

^a PM: Peso molecular

Los resultados mostraron que las dos proteínas miofibrilares mayoritarias (miosina y actina) tuvieron un comportamiento muy diferente durante el procesado de la cecina desde los 210 a 360 días de curado. Por un lado, la cadena pesada de miosina, la cual aparece a 200 kDa, disminuyó en un 56% desde los 210 días hasta los 360 días de procesado. Sin embargo, la concentración relativa de actina (45 kDa) descendió sólo un 12% al aumentar el tiempo de curación. Estudios previos (Bechtel y Parrish, 1983) demostraron que

la cadena pesada de la miosina se degrada más que la de la actina durante la maduración de la carne.

Otras proteínas de alto peso molecular, como las de 171 y 102 kDa, también disminuyeron al aumentar el tiempo de curado. Al mismo tiempo que se produjeron estas modificaciones, aumentaron algunos péptidos (159-66 kDa), probablemente por la degradación de las cadenas de miosina, actina y de otras proteínas de pesos moleculares elevados. Diversas proteínas de peso inferior a 45 kDa, como la tropomiosina, las tres subunidades de la troponina y las cadenas ligeras de la miosina, disminuyeron al aumentar el tiempo de maduración desde 270 a 360 días (Tabla 34).

En general, las modificaciones observadas en las proteínas durante el proceso de curado coinciden con las descritas en el experimento 2 (apartado 2.1.2 de la Tesis) en el que se estudió la influencia de la utilización de materia prima refrigerada y congelada sobre las propiedades de la cecina. Por último indicar, que los resultados obtenidos en el gel de electroforesis coinciden con los resultados obtenidos para el NNP y NA (Tabla 32), ya que ambos reflejan una progresiva proteólisis.

2.3.5. Características sensoriales

La Tabla 35 muestra los parámetros de color medidos instrumentalmente, luminosidad (L^*), índice de rojo (a^*) y índice de amarillo (b^*), en cecinas con 210, 270 y 360 días de curación.

Tabla 35. Valores (media \pm desviación estándar) obtenidos en la evaluación instrumental del color en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación.

| Días | L^* | a^* | b^* |
|------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 210 | 26,44 \pm 1,43 _b | 6,70 \pm 1,20 _a | 3,98 \pm 1,60 _a |
| 270 | 27,14 \pm 1,29 _b | 14,93 \pm 1,22 _b | 4,08 \pm 1,41 _a |
| 360 | 20,61 \pm 0,80 _a | 12,43 \pm 2,16 _b | 6,32 \pm 1,43 _a |

^{a,b} Medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren significativamente (Test de Tukey, $p < 0,05$).

Resultados y discusión

Los resultados indicaron que L^* disminuyó ($p < 0,05$) al aumentar el tiempo de curado debido probablemente al descenso del contenido en agua. Estévez y col. (2003) y Sanabria y col. (2004) indicaron que un descenso en el contenido de agua daba lugar a un descenso de la concentración de pigmentos, como la mioglobina, lo que provocaba una reducción de L^* . En nuestro estudio también se observó una correlación positiva de L^* con la humedad ($r = 0,48$, $p < 0,05$), que confirma lo indicado por estos autores. Por otro lado, Fernández-López y col. (2003) apuntaron que la concentración de sal afecta a L^* , de manera que este parámetro disminuye a medida que aumenta la concentración de sal. En los experimentos 2 y 3 de la presente Tesis también se observó una reducción de L^* durante el curado.

En relación a los valores de a^* , éstos fueron menores ($p < 0,05$) en la cecinas con 210 días de procesado. Autores como Pérez-Álvarez y col. (1997) y Fernández-López y col. (2003) indicaron que el incremento de los valores de a^* en los productos cárnicos curados podría ser debido al contenido en sal. Estos autores ofrecen dos explicaciones del efecto de la sal sobre a^* : 1) la sal favorece la extracción de las proteínas sarcoplasmáticas (incluida la mioglobina) hacia la superficie de la carne, de manera que se produce un incremento en la superficie de la carne de los parámetros que contribuyen al color rojo y 2) la adición de sal produce un aumento en la capacidad de retención de agua, que reduce el contenido de agua en la superficie de la carne, lo que provoca un incremento en la concentración de mioglobina.

Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) para b^* entre las cecinas con diferente tiempo de procesado. Este resultado podría indicar que un aumento en el tiempo de curación no implica un aumento en la oxidación del producto, lo cual es lógico si se tiene en cuenta el bajo porcentaje de grasa infiltrada que presenta la cecina.

La Tabla 36 muestra los resultados obtenidos en la evaluación instrumental de la textura. Puede observarse que, mientras la **dureza**, la **masticabilidad** y la **elasticidad** aumentaron ($p < 0,05$), la **cohesividad** disminuyó ($p < 0,05$) al aumentar el tiempo de curado. Estos cambios en la dureza y en la masticabilidad pueden atribuirse al estado de las proteínas y al contenido acuoso. En las cecinas con 360 días de procesado el contenido acuoso fue

Resultados y discusión

menor (Tabla 30), pudiendo ser ésta una de las causas principales del aumento en la dureza. De hecho, se observó, una correlación negativa entre la humedad y la dureza ($r = -0,62$, $p < 0,05$), entre la humedad y la masticabilidad ($r = -0,72$, $p < 0,05$) y entre la humedad y elasticidad ($r = -0,68$, $p < 0,05$) y una correlación positiva entre la humedad y la cohesividad ($r = 0,94$, $p < 0,05$).

Tabla 36. Valores (media \pm desviación estándar) obtenidos en la evaluación de la textura instrumental en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación.

| Medida instrumental de la textura | | | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Días | Dureza (g) | Masticabilidad (g) | Elasticidad | Cohesividad |
| 210 | 1964,16 \pm 361,10 _a | 516,64 \pm 155,99 _a | 0,52 \pm 0,06 _a | 0,49 \pm 0,01 _b |
| 270 | 2699,05 \pm 95,99 _b | 709,27 \pm 135,91 _b | 0,63 \pm 0,11 _{ab} | 0,43 \pm 0,05 _a |
| 360 | 3074,35 \pm 464,34 _c | 892,66 \pm 144,22 _c | 0,68 \pm 0,05 _b | 0,42 \pm 0,01 _a |

^{a,b,c} Medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren significativamente (Test de Tukey, $p < 0,05$).

Los resultados obtenidos en la evaluación sensorial realizada con catadores entrenados se muestran en las Tablas 37, 38 y 39.

Tabla 37. Puntuaciones (media \pm desviación estándar) obtenidas en el análisis sensorial realizado con catadores entrenados, de los parámetros visuales en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación (1-intensidad mínima, 5-intensidad máxima).

| Parámetros visuales | | | | | |
|---------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Días | Homogeneidad de color | Intensidad de color | Presencia de veteado | Color de la grasa | Grasa intermuscular |
| 210 | 2,25 \pm 0,20 _a | 2,42 \pm 0,43 _a | 2,33 \pm 0,23 _a | 1,58 \pm 0,31 _a | 2,83 \pm 0,31 _a |
| 270 | 3,01 \pm 0,14 _b | 3,72 \pm 0,29 _b | 2,28 \pm 0,21 _a | 1,41 \pm 0,43 _a | 2,44 \pm 0,34 _a |
| 360 | 3,85 \pm 0,14 _c | 3,66 \pm 0,23 _b | 2,30 \pm 0,44 _a | 1,56 \pm 0,09 _a | 2,22 \pm 0,63 _a |

^{a,b,c} Medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren significativamente (Test de Tukey, $p < 0,05$).

Resultados y discusión

Respecto a los parámetros visuales (Tabla 37), no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) al aumentar el tiempo de curación, en la presencia de **veteado**, el **color amarillo de la grasa** y la **presencia de grasa intermuscular**. La **homogeneidad de color** aumentó ($p < 0,05$) con el tiempo de curación y la **intensidad de color** fue mayor ($p < 0,05$) en las cecinas con 270 y 360 días de procesado que en las cecinas con 210 días de curación. Estos resultados concuerdan con los valores obtenidos para a^* en la evaluación instrumental del color; de hecho, se encontró una correlación positiva entre a^* y la intensidad de color ($r = 0,59$, $p < 0,05$). Comportamientos similares en los parámetros de color fueron descritos por Cilla (2005) en un estudio con jamón en el que se aumentaba el tiempo de curación de 12 a 26 meses.

La Tabla 38 muestra los resultados obtenidos en la evaluación del olor y del flavor. La **intensidad de olor** fue menor ($p < 0,05$) en las cecinas elaboradas con 210 días de procesado mientras que la **intensidad de flavor** y la **persistencia del sabor** fueron mayores ($p < 0,05$) en las cecinas con 360 días de procesado.

Tabla 38. Puntuaciones (media \pm desviación estándar) obtenidas en el análisis sensorial realizado con catadores entrenados, de los parámetros de olor y flavor en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación (1-intensidad mínima, 5-intensidad máxima).

| Días | Olor | Parámetros de flavor | |
|------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| | Intensidad de olor | Intensidad de flavor | Persistencia del flavor |
| 210 | 2,91 \pm 0,31 _a | 2,88 \pm 0,36 _a | 2,83 \pm 0,31 _a |
| 270 | 3,34 \pm 0,13 _b | 3,09 \pm 0,13 _a | 3,34 \pm 0,47 _{ab} |
| 360 | 3,33 \pm 0,23 _b | 3,72 \pm 0,21 _b | 3,55 \pm 0,07 _b |

^{a,b} Medias con diferentes subíndices en la misma columna indican diferencias significativas. (Test de Tukey, $p < 0,05$).

Estos resultados se pueden relacionar con los cambios que se producen en las proteínas y los lípidos a lo largo del proceso de curado. Así, se observaron correlaciones positivas entre la intensidad de flavor y el NNP ($r = 0,67$, $p < 0,05$), el NA ($r = 0,88$, $p < 0,05$) y los AGL ($r = 0,84$, $p < 0,05$); y entre la intensidad de olor y el NNP ($r = 0,63$, $p < 0,05$). Estos resultados fueron similares a los encontrados por Toldrá (2006a) quien indicó que cuando se alarga el periodo de

maduración-secado de un producto cárnico, la actividad enzimática aumenta y, como consecuencia, aumenta el contenido en aminoácidos y ácidos grasos libres los cuales contribuyen directamente al sabor e indirectamente a los compuestos del aroma.

La Tabla 39 recoge los valores obtenidos en la evaluación de los parámetros de textura. La cecina con 360 días de curación presentó una mayor **dureza**, comportamiento similar al encontrado en la dureza instrumental ($r=0,60$, $p<0,05$). La **masticabilidad** permaneció constante ($p>0,05$) a diferencia de lo que sucedía en la medida de la masticabilidad instrumental. Por otro lado, la **jugosidad** descendió ($p<0,05$) al aumentar el tiempo de curado y la **pastosidad** aumentó desde los 270 hasta los 360 días. El descenso de la jugosidad podría ser debido al menor contenido en agua (Tabla 30), de hecho la humedad se relacionó de una manera positiva con la jugosidad ($r=0,74$, $p<0,05$). Por otro lado, se encontró una relación positiva entre el NNP y la pastosidad ($r=0,73$, $p<0,05$). En estudios con jamón, algunos autores (Careri y col., 1993; Guerrero y col., 1999) han relacionado la pastosidad con el grado de proteolisis que se produce a lo largo del proceso de elaboración, así jamones con un alto porcentaje de NNP presentaron valores altos de pastosidad.

Tabla 39. Puntuaciones (media \pm desviación estándar) obtenidas en el análisis sensorial realizado con catadores entrenados, de los parámetros de textura en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación (1-intensidad mínima, 5-intensidad máxima).

| Días | Parámetros de textura | | | |
|------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | Dureza | Masticabilidad | Jugosidad | Pastosidad |
| 210 | 1,75 \pm 0,35 _a | 2,37 \pm 0,58 _a | 3,44 \pm 0,04 _c | 2,33 \pm 0,26 _a |
| 270 | 2,46 \pm 0,10 _b | 2,54 \pm 0,44 _a | 3,04 \pm 0,03 _b | 2,52 \pm 0,32 _a |
| 360 | 3,72 \pm 0,21 _c | 2,74 \pm 0,40 _a | 2,44 \pm 0,02 _a | 3,05 \pm 0,31 _b |

^{a,b,c} Medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren significativamente (Test de Tukey, $p<0,05$).

Los resultados obtenidos en las **pruebas triangulares** realizadas con consumidores indican que, los consumidores fueron capaces de distinguir ($p<0,01$) entre las cecinas con 210, 270 y 360 días de curación.

Resultados y discusión

Por otro lado, en los resultados obtenidos en la **evaluación de preferencia** realizada con consumidores, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en cuanto a la preferencia entre las cecinas con un tiempo de curación de 270 y 360 días. La cecina con menor tiempo de curación (210 días) fue la menos ($p < 0.05$) preferida (27%) por los consumidores. De acuerdo con los consumidores, esta menor preferencia fue debida a que estas cecinas presentaron una menor intensidad de color y olor. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por el panel de catadores entrenados (Tablas 37 y 38) así como a los obtenidos en la medida instrumental del color (Tabla 35).

2.3.6. Análisis de componentes principales

Los resultados obtenidos en la evaluación de los parámetros físico-químicos, microbiológicos y sensoriales en las cecinas con diferentes tiempos de curación fueron sometidos a un análisis de componentes principales (Figura 30). La gráfica A muestra el peso de cada variable en cada componente y la gráfica B muestra las coordenadas de las muestras para cada componente.

Los dos componentes principales explicaron un 70,65% del total de la varianza, siendo el primer componente (PC1) el que explicó un mayor porcentaje de la varianza (61,15%). Los recuentos microbianos, la humedad, la a_w , el NP y los PL tienen una elevada carga positiva sobre el PC1, mientras que el NaCl, el NNP, el NA y los AGL junto con la mayoría de los parámetros de textura tienen una elevada carga negativa en este componente. El segundo componente (PC2) explicó un 9,50% del total de la varianza. La FAMV, el NAY algunos parámetros sensoriales como el color amarillo de la grasa, la presencia de grasa intermuscular y la intensidad del flavor presentaron una carga positiva sobre el PC2. Por otro lado, los LN, los parámetros instrumentales de color (L^* , a^* y b^*) y la intensidad de olor presentaron una alta carga negativa sobre el PC2.

De acuerdo con la gráfica B, los tres grupos de cecina (con 210, 270 y 360 días de curación) se separaron en tres grupos claramente diferenciados. El PC1 separó los tres grupos de cecina y el PC2 separó las cecinas con 270 días de curado de las cecinas con 210 y 360 días de curado. Las cecinas con 210 días de curado se agruparon en el cuadrante derecho del PC1, que correspondió a valores altos de humedad, a_w , recuentos microbianos, NP, LN, cohesividad y

Resultados y discusión

jugosidad. La cecina con 360 días de curado presentó una carga negativa sobre PC1 y positiva sobre PC2 que correspondió con altos niveles de NaCl, NA, AGL y de algunos parámetros sensoriales como la intensidad de flavor, la persistencia del sabor, la homogeneidad del color y la pastosidad.

Resultados y discusión

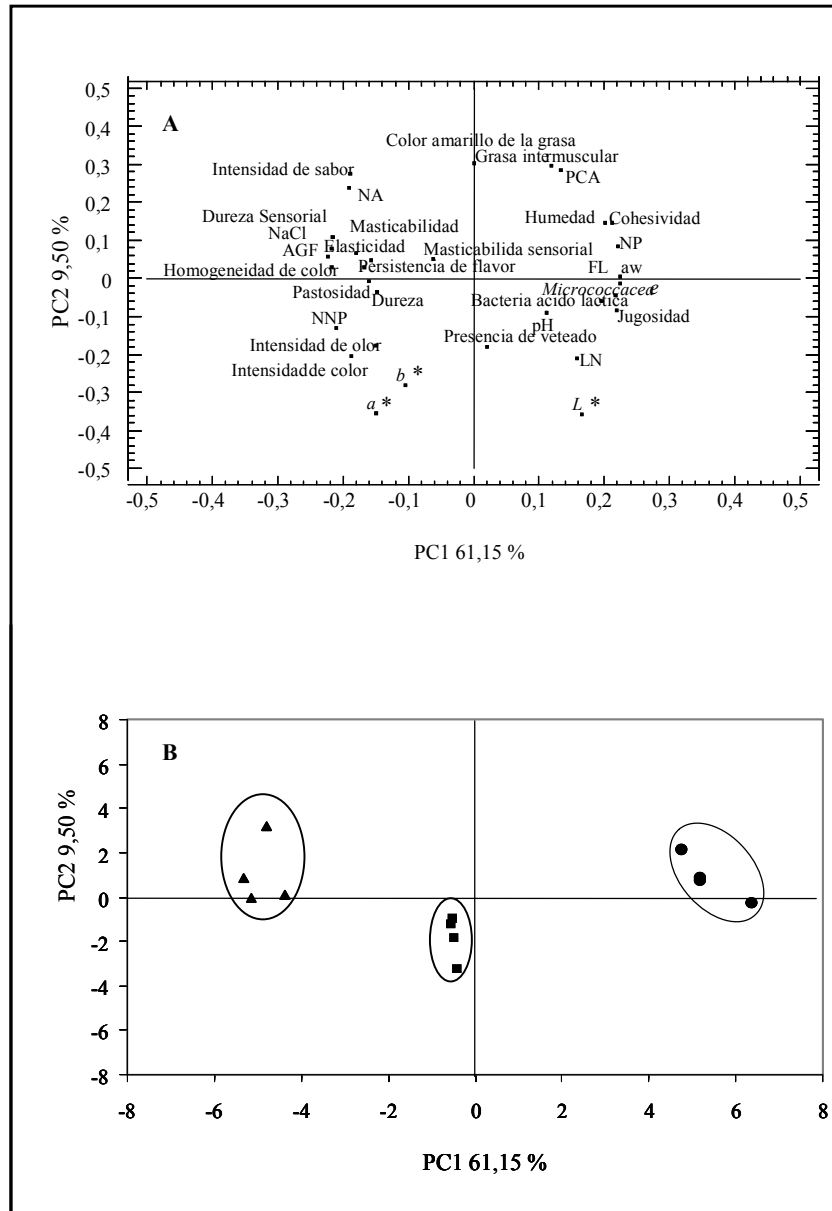


Figura 30. Distribución de los parámetros (A) y de las muestras (B) en el análisis de componentes principales de los parámetros microbiológicos, físicoquímicos y sensoriales en las cecinas elaboradas con diferentes tiempos de curación: 360 días (\blacktriangle), 270 días (\blacksquare) y 210 días (\bullet).

2.3.7. Resumen

El estudio de la influencia del tiempo de secado (desde 7 hasta 12 meses) en las características microbiológicas, físico-químicas y sensoriales de la Cecina de León mostró modificaciones en los mismos. Así, los recuentos microbianos, el contenido de humedad y la a_w disminuyeron con el tiempo de curado, mientras que el contenido de sal, de NA y de AGL aumentó, contribuyendo a la modificación de las propiedades sensoriales. En consecuencia, la cecina con un tiempo de secado más largo presentó valores más altos en el color y en la intensidad y persistencia del flavor. De acuerdo con las preferencias de los consumidores, la calidad sensorial de la cecina aumentó cuando la maduración se prolongó desde 210 a 270 días, pero no cambió cuando la maduración se prolongó hasta 360 días.

La separación electroforética en geles poliacrilamida-SDS de las proteínas extraídas de la cecina en los 3 tiempos de procesado estudiados mostró una degradación progresiva de diversas proteínas miofibrilares, incluidas las dos mayoritarias miosina y actina. El grado de proteólisis de la miosina durante ese periodo superó el 55%, mientras que en el caso de la actina fue del 12%. Como resultado, simultáneamente, se puso de manifiesto la presencia de varias bandas proteicas de alto peso molecular que con toda probabilidad provienen de la degradación de proteínas como la miosina. La concentración de estos péptidos aumentó progresivamente durante el procesado. En la zona de bajo peso molecular, aunque también se observó la aparición de algún péptido, predominó la disminución de la concentración de las proteínas que se extrajeron de la cecina a los 7 meses. Estos resultados concuerdan con la evolución del NPN, NP y NA a lo largo del procesado.

VI. CONCLUSIONES

1. CONCLUSIONES

1. Del estudio de la caracterización de la Cecina de León puede concluirse que el origen anatómico de las piezas utilizadas para la elaboración de la misma (babilla, tapa o contra) determinó diferencias en las características del producto final. Las principales diferencias se encontraron en la composición, siendo la cecina elaborada a partir de piezas de contra la que presentó un mayor contenido de humedad, de grasa y de hidroxiprolina, lo cual influyó en las características sensoriales. También la cecina elaborada a partir de esta pieza presentó una textura notablemente diferente de la cecina que se elabora a partir de la babilla y de la tapa. Por otra parte, se observaron diferencias en cuanto al perfil de ácidos grasos, siendo la grasa de la contra, la que se aproximaba más a las recomendaciones nutricionales.
2. Del estudio de optimización del proceso de elaboración de la Cecina de León puede concluirse que:
 - Tanto la congelación de la carne utilizada para la elaboración de la cecina, como el peso de las piezas influyeron en las transformaciones que tienen lugar durante la elaboración de la cecina y que condicionan sus características. Principalmente, afectaron al proceso de proteólisis, siendo más intenso en la cecina que se elaboró a partir de materia prima congelada y con piezas de mayor peso. Como consecuencia, las propiedades sensoriales obtenidas en el producto final se modificaron, presentando este tipo de cecinas un mayor flavor y una mayor jugosidad y masticabilidad. Además, la congelación de la materia prima no afectó a las características microbiológicas ni de la carne fresca, ni de la cecina, confirmándose que la flora predominante de la cecina está constituida por bacterias ácido lácticas y micrococáceas.
 - La adición de nitrato, individualmente o junto con nitrito, no modificó de forma apreciable las características de la cecina. No obstante, si se elabora cecina sin la incorporación de agentes de curado, tanto para obtener unas buenas características respecto al color como una a_w que garantice la seguridad microbiológica del producto, es conveniente un periodo de maduración largo (360 días).

Conclusiones

- La maduración de la Cecina de León desde 210 a 360 días determinó modificaciones progresivas de parámetros físico-químicos y microbiológicos, así como de las propiedades sensoriales; sin embargo, a partir de los 9 meses de procesado (270 días) estos cambios no mejoraron la calidad sensorial.

Desde el punto de vista tecnológico, y de forma global, las principales conclusiones que derivan de las anteriormente enunciadas son: (1) la posibilidad de utilizar materia prima congelada para obtener una Cecina de León de buena calidad sensorial; (2) la posibilidad de reducir la cantidad de agentes de curado sin que se vean afectadas negativamente las propiedades sensoriales de la cecina; y (3) la conveniencia de prolongar el tiempo de curado de la Cecina de León por encima de los 7 meses (210 días) que establece la IGP para mejorar sus propiedades sensoriales.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. BIBLIOGRAFÍA

A

- Adamsen, C.H., Møller, J.K.S., Laursen, K., Olsen, K., y Skibsted, L.H. (2006). Zn-porphyrin formation in cured meat products: Effect of added salt and nitrite. *Meat Science*, 72, 672-679.
- Aksu M.I., Kaya M., Ockerman H.W. 2005. Effect of modified atmosphere packaging, storage period, and storage temperature on the residual nitrate of sliced-pastirma, dry meat product, produced from fresh meat and frozen/thawed meat. *Food Chemistry*, 93: 237-242.
- Andújar, G., y Tarrazo, J. (1981). The rate of penetration of salt into meat. *Fleischwirtschaft*, 61, 1366-1367.
- Antequera, M.T., y Martín, L. (2001). Reacciones químicas y bioquímicas que se desarrollan durante la maduración del jamón Ibérico. En. *Tecnología del jamón ibérico*. Coordinador. J. Ventanas. Ed. Mundi Prensa. (Madrid) pp 293-323.
- Antequera, T., Córdoba, J.J., Martín, L., García, C., Bermudez, M.E., y Ventanas, J. (1993). Free fatty acids during the ripening of Iberian ham. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, 33, 197-208.
- Aristoy, M.C., y Toldrá, F. (1998). Concentration of free amino acids and dipeptides in porcine skeletal muscles with different oxidative. *Meat Science*, 50, 327-332.
- Arnau, J. (1991). Aportaciones a la calidad tecnológica del jamón curado elaborado por procesos acelerados. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Veterinaria, España.
- Arnau, J. (1998). Principales problemas tecnológicos en la elaboración del jamón curado. En *El jamón curado: Tecnología y análisis de consumo*. Simposio Especial 44th ICOMST. Editado por Eurocarne (pp. 71-86).
- Arnau, J. (2007). Tecnología de salazón de jamones: factores y elementos de control. IV Congreso Mundial del Jamón. Salamanca, 18-20 de abril.
- Arnau, J., Gou, P., y Guerrero, L. (1994). Effect of freezing, meat pH and storage temperature on the formation of white film and tyrosine crystals in dry-cured hams. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 66, 279-282.
- Arnau, J., Guerrero, L., Casademont, G., y Gou, P. (1995). Physical and chemical changes in different zones of normal and PSE dry cured ham during processing. *Food Chemistry*, 52, 63-69.
- Arnau, J., Guerrero, L., y Gou, P. (1997). Effects of temperature during the last month of ageing and of salting time on dry-cured ham, aged for six months. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74, 193-198.
- Arnau, J., Guerrero, L., y Sárraga, C. (1998). The effect of green ham pH and NaCl concentration on cathepsin activities and sensory characteristics of dry-cured ham. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77, 387-392.
- Asenjo-Martín, B. (1999). Efecto de la raza y de la alimentación en los parámetros productivos y de calidad de canal y de carne en añajos de razas charoles y serrana soriana. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid. Escuela Universitaria de Ingenierías Agrarias de Soria.

Bibliografía

- Astiasarán, I., Beriain, M. J., Melgar, J., Sánchez-Monge, J. M., Villanueva, R., y Bello, J. (1988). Estudio comparativo de las características de jamones curados de cerdo blanco elaborados con distintas tecnología. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 28, 519-528.
- B**
- Bañón, S., Cayuela, J.M., Granados, M.V., Garrido, M.D. (1999). Pre-cure freezing affect proteolysis in dry-cured hams. *Meat Science* 51, 11-16.
- Barat, J.M., Grau, R., Ibáñez, J.B., Pagán, M., Flores, M., Tóldra, F., Fito, P. (2006). Accelerated processing of dry-cured ham. Part I. Viability of the use of brine thawing/salting operation. *Meat Science*, 72, 757-765.
- Batholomew, D.T., Blumer, T.N. (1997). Microbial interactions in country-style hams. *Journal of Food Science*, 42, 4988-502.
- Beattie, V.E., Weatherup, R.N., Moss, B.W., Walker, N. (1999). The effect of increasing carcass weight of finishing boars and gilts on joint composition and meat quality. *Meat Science*, 52, 205-211.
- Bechtel, P. J., Parrish, Jr.F.C. (1983). Effects of postmortem storage and temperature on muscle protein degradation: Analysis by SDS gel electrophoresis. *Journal of Food Science*, 48, 294-297.
- Belitz, H.D., Grosch, W. (1988). *Química de los Alimentos*: Springer. Berlin, pp. 281-282.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
- BOCyL, (1993). Orden de 28 de julio de 1993, por la que se reconoce con carácter provisional la Denominación Específica “Cecina de León”.
- Boletín Oficial de Castilla y León, 150, de 6 de agosto de 1993, 3988.
- BOCyL, (1994). Orden de 17 de enero de 1994, por la que se aprueba el Reglamento de la Denominación Específica “Cecina de León” y su Consejo Regulador. Boletín Oficial de Castilla y León N° 14, de 21 de enero de 1994, 444-450.
- BOE, (1979). Orden de 31 de julio de 1979 por la que se establecen métodos oficiales de análisis de aceites y grasas, productos cárnicos, cereales y derivados, fertilizantes, productos fitosanitarios, productos lácteos, piensos, aguas y productos derivados de la uva. Boletín Oficial del Estado: 20221, 20247
- BOE, (1984). Real Decreto 379/1984, de 25 de enero, por el que se apruebe la Reglamentación Técnico-Sanitaria de Industrias, Almacenes al por mayor y Envasadoras de Productos y Derivados Cárnicos Elaborados y de los Establecimientos de Comercio al por menor de la Carne y Productos Elaborados. Boletín Oficial del Estado, 0049 (27/2/1984): 5273-5280.
- BOE, (2002). Real Decreto 142/2002 de 1 de febrero, por el que se aprueba la lista positiva de aditivos de colorantes y edulcorantes para su uso en la elaboración de productos alimenticios, así como sus condiciones de utilización. Boletín Oficial del Estado, 44 (20/2/2002): 6756-6798.
- BOE, (2007). Real Decreto 1118/2007, de 24 de agosto, por el que se modifica el Real Decreto 142/2002, por el que se aprueba la lista positiva de aditivos de colorantes y edulcorantes para su uso en la elaboración de productos alimenticios, así como sus condiciones de utilización. Boletín Oficial del Estado, 221 (14/9/2007): 37533-37544.
- Bonnet, M., Kopp, J. (1984). Dossage du collagene dans les tissue conjonctives, la viande

Bibliografía

- et les produits carnés. Cahiers Techniques du INRA, 5, 19-30.
- Boocard, R., Bordes, A. (1986). Caractéristiques qualitatives et technologiques des viandes bovines: influence des facteurs de production. En: Production de Viande Bovine, 61-84. Ed. INRA, Paris (Francia).
- Bourne, M.C. (1978). Textura Profile Analysis. Food Technology, 32, 62-66, 72.
- Bover-Cid, S., Miguelez-Arrizado, J.M., Latorre-Moratalla, L., Vidal-Carou, M.C. (2006). Freezing of meat raw materials affects tyramine and diamine accumulation in spontaneously fermented sausages. Meat Science, 72, 62-68.
- Breene, W.M. (1975). Application of texture profile analysis to instrumental food texture evaluation. Journal of Texture Studies, 6, 53-82.
- Brooks, J., Haines, R. B., Moran, T., Pace, J. (1940). The Function of Nitrite and Bacteria in the Curing of Bacon and Hams, Res. Food Invest. Special Rep. N° 49, Her Majesty's Stationery Office, London.
- Buscailhon, S., Berdagué, J.L., Bousset, J., Cornet, M., Gandemer, G., Touraille, C., Monin, G. (1994). Relation between compositional traits and sensory qualities of French dry-cured ham. Meat Science 37, 229-240.
- C**
- Caine, W.R., Sauer, W.C., Huang, G.S., Diebold, G., Schollenberger, M., Mosenthin, R. (2003). Relationship of texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef ribs steaks. Livestock Science 116, 300-308.
- Cammack, R., Joannou, C.L., Cui, X.Y., Torres Martínez, C., Maraj, S.R., Hughes, M.N. (1999). Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. Biochimica et Biophysica Acta, 1411, 475-488.
- Careri, M., Mangi, 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, 58, 968-972.
- Carrascosa, A.V., Marín, M.E., Avendaño, M.C., Comejo, I. (1988). Jamón Serrano. Cambios microbiológicos y físico-químicos durante el curado rápido. Alimentaria, 194, 9-12.
- Carraspiso, A.I., García, C. (2005). Instrumental colour of Iberian ham subcutaneous fat and lean (biceps femoris): Influence of crossbreeding and rearing system. Meat Science, 71, 284-290.
- Cassens, R. G., Graser, M. I., Ito, T., Lee, M. (1979). Reactions of nitrite in meat. Food Technology. 33, 46-57.
- Cava, R. (1997). Influencia de la alimentación sobre los fenómenos oxidativos desarrollados durante la maduración del jamón de cerdo Ibérico. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.
- Chacón, A. (2004). La suavidad de la carne: implicaciones físicas y bioquímicas asociadas al manejo y proceso agroindustrial. Agronomía Mesoamericana, 15, 225-243.
- Chawla S.P.y Chander R. 2004. Microbiological safety of shelf-stable meat products prepared by employing hurdle technology. Food Control, 15: 559-563.
- Cheftel, J.C., Cheftel, H. (1976). Introduction a la biochimie et a la technologie des Aliments. Vol. I. Editado por Enterprise Moderne d'Édition. Paris. France.
- Cilla, I. (2005). Calidad y vida útil del jamón curado Denominación de Origen Teruel: Contenido en grasa, maduración y conservación; actitudes de los consumidores.

Bibliografía

- Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria. Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos.
- Córdoba, J. J., Antequera, T., Ventanas, J., López-Bote, C., Asensio, M. C. (1994a) Hydrolysis and loss of extractability of proteins during ripening of Iberian ham. *Meat Science*, 37, 217-227.
- Córdoba, J. J., Antequera, T., Ventanas, J., López-Bote, C., Asensio, M. C. (1994b). Evolution of free amino acids and amines during ripening of Iberian ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 2296-2301.
- Córdoba, J.J. (1990). Transformaciones de los componentes nitrogenados durante la maduración del jamón de cerdo Ibérico. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.
- Cornejo, I., Carrascosa, A.V. (1991). Characterization of Micrococaceae strains selected as potential starter cultures in Spanish dry cured ham processes. I: Fast process *Fleischwirtschaft*, 71, 66-68.
- Cornejo, I., Carrascosa, A.V., Marin, M.E., Martín, P.J. (1992). Considerations about the origin of microorganisms that grow on the deep muscle tissues of dry cured hams during processing. *Fleischwirtschaft*, 72, 1405-1407.
- D**
- De Ketelaere, A., Demeyer, D., Vandekerckhove, P., Vervaeke, I. (1974). Stoichiometry of carbohydrate fermentation during dry sausage ripening. *Journal of Food Science*, 39, 297-300.
- Departamento de Salud de Reino Unido (1994). *Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease. Report on Health and Social Subject No. 46.* London: Her Majesty's Stationery Office.
- Dierick, N., Vandekerckhove, P., Demeyer, D. (1974). Changes in nonprotein nitrogen compounds during sausages ripening. *Journal of Food Science*, 39, 301-304.
- Directiva 2006/52/CE del parlamento europeo y del consejo de 5 de julio de 2006 por la que se modifica la Directiva 95/2/CE relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes y la Directiva 94/35/CE relativa a los edulcorantes utilizados en los productos alimenticios.
- DO (1995). Directiva 95/2/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de febrero de 1995 relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes. *Diario Oficial de la Comunidades Europeas*, L 61 (18/3/1995): 1-40.
- DO (Diario Oficial de las Comunidades Europeas), (1996). Reglamento (CE) nº 1107/96 de la Comisión, del 12 de junio de 1996, relativo al registro de las indicaciones geográficas y de las denominaciones de origen con arreglo a lo establecido en el artículo 17 del reglamento (CEE) n 2081/92 del Consejo. *Diario Oficial de la Comunidades Europeas*, L 148 (21/6/1996): 1-10.
- DOUE (2006a). Directiva (CE) 52/CE del Parlamento europeo y del Consejo de 5 de julio de 2006 por la que se modifica la Directiva 95/2/CE relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes y la Directiva 94/35/CE relativa a los edulcorantes utilizados en los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L 204 (26/7/2006): 10-22.
- DOUE (2006b). Reglamento (CE) No 510/2006 del Consejo de 20 de marzo de 2006 sobre la protección de las indicaciones geográficas y de las denominaciones de origen de los productos agrícolas y alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L 93 (31/3/2006): 12-25.

Bibliografía

Durand, P. (2002). "Tecnología de los productos de charcutería y salazones". Ed: Acibia. S.A. Zaragoza, 131-153.

E

EFSA (2003). Opinion of the Science Panel on biological hazards on the request from the Commission related to the effect of nitrites/nitrates on the microbiological safety of meat products. The EFSA Journal 12, 1-31.

Ellis, R., Currie, G.T., Thornton, F.E., Bollinger, N.C., Gaddis, A.M. (1968). The prooxidant activity of sodium chloride on pork tissue. *Journal of Food Science*, 33, 555-557.

Enser, M. (2001). The role of fats in human nutrition. In B. Rossell, *Oils and fats. Animal carcass fats* (Vol. 2) (pp. 77-122). Leatherhead, Surrey, UK: Leatherhead Publishing.

Essen-Gustavson, B., Jense-Waern, M. (1993). Muscle characteristic and metabolic response at slaughter in domestic pigs reared Esther outdoor or indoor. Proc. 39th Internacinal Congreso of Meat Science and Tecnology. Calgary, Canada. S2P09.WP.

Estévez, M., Morcuende, D., Cava, R. (2003). Oxidative and colour changes in meat from three lines of free-range reared Iberian pigs slaughtered at 90 kg live weight and from industrial pig during refrigerated storage. *Meat Science*, 65, 1139-1146.

F

Fanco, I., Prieto, B., Cruz, J.M., López, M., Carballo, J. (2002). Microbiological characteristics of "androlla", a Spanish traditional pork sausage *Food Chemistry*, 78, 339-345.

Feiner, G. (2006). Introduction to the microbiology of meat and meat products. In: *Meat products Handbook practical Science and Technology*. Chapter 38.

Fennema, O. R., (1996). *Food Chemistry*, 3ª edición, Marcel Dekker, New York.

Fernández, M., Ordóñez, J. A., Cambero, I., Santos, C., Pin, C., De la Hoz, L. (2007). Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications. *Food Chemistry*, 102, 107-112.

Fernández-López, J., Perez-Álvarez, J. A., Aranda-Catalá, V. (1994). Dry-cured ham: contribution on the influence of pH and temperature during the salting stage. In: Fito, Serra J, Hernández E, Vidal D, *Anales de investigación del Master en Ciencia e Ingeniería de Alimentos*. (Vol. 3) (pp 563-578).Valencia: Repraval SL.

Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Pérez-Alvarez, J.A., Aranda-Catalá, V. (2003). Effect of sodium chloride, sodium tripolyphosphate and pH on color properties of pork meat. *Industrial Applications: Colour research and application*, 29, 67-74.

Flores, J. (1997). Mediterranean vs northern European meat products Processing technologies and main differences. *Food Chemistry*, 59, 505-510.

Flores, J., Ingram, D.A., Bett, K.L., Toldrá, F., Spanier, A.M. (1997). Sensory characteristics of Spanish "Serrano" dry cured ham. *Journal of Sensory Studies*, 12, 169-179.

Flores, J., Nieto, P., Bermell, S., Alberola, J. (1987). Cambios en los ácidos de los lípidos del jamón durante el proceso de curado. I. Magro de jamón. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 28, 90-96.

Flores, J., Toldrá, F. (1993). Curing. En: Macrae, R., Robinson, R.K., Sadler, M.J. (Eds), *Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition*. Academic Press, London, pp. 1277-1282.

Flores, M., Aristoy, M.C., Antequera, T., Barat, J.M., Toldrá F. (2009). Effect of prefreezing

Bibliografía

- hams on endogenous enzyme activity during the processing of Iberian dry-cured hams. *Meat Science*, 82:241-246.
- Flores, M., Aristoy, M.C., Toldrá, F. (2008). Efectos de la congelación y descongelación de la materia prima sobre la calidad del jamón Ibérico. VI Jornadas sobre el cerdo Ibérico y sus productos, pp. 117-123. Salamanca, 29 y 30 de Octubre del 2008.
- Flores, M., Barat, J.M., Aristoy, M.C., Peris, M.M., Grau, R., Toldrá, F. (2005). Accelerated processing of dry cured ham. Part 2. Influence of brine thawing/salting operation on proteolysis and sensory acceptability. *Meat Science*, 72, 766-772.
- Flores, M., Soler, C., Aristoy, M.C., Toldrá, F. (2006). Effect of brine thawing/salting for time reduction in Spanish dry-cured ham manufacturing on proteolysis and lipolysis during salting and post-salting periods. *European Food Research and Technology*, 222, 509-515.
- Forcen, R., Perez, J. A., Gago, M. A., Aranda, V. (1993). Evolución del color en los períodos de salado y postsalado en la elaboración de jamón curado. *Anales de Investigación del Master de Ciencia y Tecnología de Alimentos (Vol. 3)* (pp. 545-562).
- G**
- García, I., Díez, V., Zumalacárregui, J. M. (1997). Changes in nitrogen fractions and free acids during ripening of Spanish dried beef "Cecina". *Journal of Muscle Foods*, 9, 257-266.
- García, I., Díez, V., Zumalacárregui, J. M. (1998). Changes in protein during the ripening of Spanish dried beef cecina. *Meat Science*, 46, 379-385.
- García, I., Zumalacárregui, J.M., Díez, V. (1995). Microbial succession and identification on Micrococcaceae in dried beef Cecina, and intermediate moisture meat product. *Food Microbiology*, 12, 309-315.
- García-Garrido, J., Quiles-Zafra, R., Tapiador, J., Luque Castro, M. (1999). Sensory and analytical properties of Spanish dry cured ham of normal and defective texture. *Food Chemistry*, 67, 423-427.
- García-Herrero, I. (1994). Maduración de la cecina de vacuno: Parámetros químicos y microbiológicos. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia. Departamento de Bioquímica y Biología molecular II.
- García-Regueiro, J.A., Gilbert, J., Díaz, I. (1994). Determination of neutral lipids from subcutaneous fat of cured ham by capillary gas chromatography and liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 667, 225- 233.
- Geisen R., Lücke F., Kröckel L. (1992). Starter and protective cultures for meat and meat products. *Fleischwirtschaft*, 72: 894-898.
- Gelartbert, J., Gou, P., Arnau, J. (1998). Disminución del contenido de sal en el jamón curado. *Eurocarne*, 70, 27-34.
- Gil, M., Guerrero, L., Sárraga, C. (1999). The effect of meat quality, salt and ageing time on biochemical parameters of dry-cured Longissimus dorsi muscle. *Meat Science*, 51, 329-337.
- Girard, J.P., (1991). La fumaison. En: *Technologie de la viande et des produits carnés*. Ed: Tec y Doc Lavoisier, Paris, 171-214.
- González-Martín, I., González-Pérez, C., Hernández-Méndez, J., Alvarez-García, N. (2002). Mineral analysis (Fe, Zn, Ca, Na, K) of fresh Iberian pork loin by near infrared reflectance spectrometry: Determination of Fe, Na and K with a remote fibre-optic reflectance probe. *Analytica Chimica Acta*, 468, 293-301.

Bibliografía

- Gøtterup, J., Olsen, K., Knöchel, S., Tjener, K., Stahnke, L.H., Møller, J.K.S. (2007). International Journal of Food Microbiology, 120, 303-310.
- Gou, P., Comaposada, J. (2000). La transferencia de sal en el interior del jamón curado. Eurocarne, 86, 35-44.
- Grau, R., Albarracín, W., Toldrá, F., Antequera, T., Barat, J.M. (2008). Study of salting and post-salting stages of fresh and thawed Iberian hams. Meat Science, 79: 677-682.
- Gray, J.I., Pearson, A.M. (1987). Rancidity and warmed-over flavour. En: Advances in Meat Research. (A.M. Pearson y T.R. Dutson, eds.). Ed. Van Nostrand Reinhold Company, New York, pp. 221-269.
- Greaser, M., Yates, L., Krzywicki, K., Roelke, D. (1983). Electrophoretic methods for the separation and identification of muscle protein. Reciprocal Meat Conference Proceedings, 36, 87-91.
- Greene, B. E., Price, L.G. (1975). Oxidation N-induced color and aroma changes in meat. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 23, 164-167.
- Guerrero, L., Gou, P., Arnau, J. (1999). The influence of meat pH on mechanical and sensory textural properties of dry-cured ham. Meat Science, 52, 267-273.
- Gutiérrez Fernández, E., Domínguez Fernández, M.C., Zumalacárregui Rodríguez, J.M. (1988). Caracterización de la Cecina de vacuno elaborada en la provincia de León. Anales de la Facultad de Veterinaria de León 34, 111-118.
- H**
- Hamm, R., (1960). Biochemistry and meat hydration. Advances in Food and Nutrition Research, 10, 356-362.
- Hammes W.P., Knauf H.J. 1994. Starter in the processing of meat products. Meat Science, 36: 155-168.
- Heller, M.C., Carpenter, J., Randolph, T.W. (1999). Protein formulation and lyophilization cycle design: prevention of damage due to freeze-concentration induced phase separation. Biotechnology and Bioengineering, 63, 166-174.
- Hierro, E., De la Hoz, L., Ordóñez, J. A. (2004). Headspace volatile compounds from salted and occasionally smoked dried meats (cecinas) as affected by animal species. Food Chemistry, 85, 649-657.
- Hollenbeck, C.M. (1994). Contribution of smoke flavouring to processed meat. En: Flavor of meat and meats products. Blackie Academic and Professional. Londres.
- Honikel, K.O. (2004). Curing agents. In Encyclopedia of Meat Sciences. W.K. Jensen, C. Devine and M. Dikeman (Eds). Elsevier Ltd., Oxford, U.K.
- Honikel, K.O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. Meat Science, 78, 68-76.
- Hunt, H. (1977). Profile of fibre types and related properties of bovine muscles. Journal of Food Science, 42, 513-516.
- I**
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), (1983). Microorganismos indicadores, Parte I: Significado de los microorganismos y de sus toxinas en los alimentos. En Microorganismos de los Alimentos 1: Técnicas de análisis microbiológicos, (pp. 314), Acribia, Zaragoza.
- ISO (International Organization for Standardization) (1973) Determination of total fat content, ISO 1443:1973 standard. In International standards meat and meat Product-

Bibliografia

Genève, Switzerland: International Organization for Standardization.

ISO (International Organization for Standardization) (1975) Determination of nitrite content, ISO 2918:1975 standard. In International standards meat and meat Product-Genève, Switzerland: International Organization for Standardization.

ISO (International Organization for Standardization) (1978) Determination of nitrogen content, ISO 937:1978 standard. In International standards meat and meat Product-Genève, Switzerland: International Organization for Standardization.

ISO (International Organization for Standardization) (1996) Determination of chloride content-Part 1: Vollhard method, ISO 1841-1:1996 standard. In International standards meat and meat Product-Genève, Switzerland: International Organization for Standardization.

ISO (International Organization for Standardization) (1997) Determination of moisture content, ISO 1442:1997 standard. In International standards meat and meat Product-Genève, Switzerland: International Organization for Standardization.

ISO (International Organization for Standardization) (1998) Determination of ash content, ISO 936:1998 standard. In International standards meat and meat Product-Genève, Switzerland: International Organization for Standardization.

J

James, S.F., James, C. (2002). Microbiology of refrigerated meat. En Meat Refrigeration. Chapter 1. Editorial

Jira, W.A (2004). Chemical reactions of curing and smoking part 2: Smoking. Fleischwirtschaft, 84, 104-111.

K

Kang, J.O., Ito, T., Fukazawa, T. (1983). Effects of frozen storage on the structure and enzymatic activities of myofibrillar proteins of rabbit skeletal muscle. Meat Science, 9, 131-144.

Kanner, J., Harel, S., Jaffe, R. (1991). Lipid peroxidation of muscle foods affected by NaCl. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39, 1017-1021.

Kemp, J.D., Langlois, B.E., Johnson, A.E. (1982). Effect of pre-cure freezing and thawing on the microflora, fat characteristics and palatability of dry-cured ham. Journal of Food Protection, 45, 244-248.

Kirsch, P., Fischer, A. (2004). Influence of nitrite on oxidative and colour stability of sliced frozen dry sausages. Fleischwirtschaft, 1, 49-50.

Klont, R. E., Brocks, L., Eikelenboom, G. (1998). Muscle fibre type and meat quality. Meat Science, 49, 219-229.

L

Laemmli, U. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227, 680-684.

Lara, J. A. F., Senigalia, S. W. B., Oliveira, T. C. R. M., Dutra, I. S., Pinto, M. F., Shimokomaki, M. (2003). Evaluation of survival of *Staphylococcus aureus* and *Clostridium botulinum* in charqui meats. Meat Science, 65, 609-613.

Larrea, V., Hernando, I., Quiles, A., Lluch, M.A., Pérez-Munuera, I. (2006). Changes in proteins during Teruel dry-cured ham processing. Meat Science, 74, 586-593.

Lawrie, R.A. (1985) Physiological stresses in relation to dark-cutting beef. Journal of Science of Food and Agriculture, 9, 721-727.

Bibliografía

- Leistner, L., Rodel, W. (1976). The stability of intermediate moisture foods with respect to microorganism. En *Water relations of foods*. Ed. R.B. Duckworth Academic Press, Nueva York.
- López-Bote, C. (1992) La calidad de la carne. En *Manual práctico de la carne*, 143-179. Editado por S. Martín Bejerano. Martín y Macías, Plasencia (Caceres).
- Lorenzo, J.M., Prieto, B., Carballo, J., Franco, I. (2003). Compositional and degradative changes during the manufacture of dry-cured lacón. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 593-601.
- M**
- Marco, A., Navarro, J.L., Flores, M. (2006). The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. *Meat Science*, 73, 660-673.
- Martín-Bejarano, S. (1992). *Manual práctico de la carne*. Ed. Martín y Macías, Madrid.
- Martín, L. (1996). Influencia de las condiciones del procesado sobre los cambios madurativos en el jamón Ibérico. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.
- Martín, L., Antequera, T., Ventanas, J., Benítez-Donoso, R., Córdoba, J. (2001). Free amino acids and other non-volatile compounds formed during processing of Iberian ham. *Meat Science*, 59, 363-368.
- Martín, L., Córdoba, J. J., Antequera, T., Timón, M. L., Ventanas, J. (1998). Effects of salt and temperature on proteolysis during ripening of Iberian ham. *Meat Science*, 49, 145-153.
- Martín, L., Córdoba, J.J., Ventanas, J., Antequera, T. (1999). Changes in intramuscular lipids during ripening of Iberian dry-cured ham. *Meat Science*, 51, 129-134.
- Martínez, A., Haza, A.I. Morales, P. (2000). N-nitrosaminas en los alimentos y riesgos para la salud. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 7, 153-158.
- Martínez, O., Salmerón, J., Guillén, M.D., Casas, C. (2004). Texture profile analysis of meat products treated with commercial liquid smoke flavourings. *Food Control*, 15, 457-461.
- Mattson, F.H., Grundy, S.M. (1985). Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *Journal of Lipid Research* 26, 2, 194-2002
- Mercie, G. P., Schmitt, R. E., Schmidt-Lorenz, W. (1989). Untersuchungen über die Reifung von Bundnerfleisch. *Fleischwirtsch*, 69, 1593-1598.
- Merino L., Edberg U., Fuchs G., Aman P. (2000). Liquid chromatographic determination of residual nitrite/nitrate in foods: NKML Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 83: 365-375.
- Molina, I., Silla, H., Flores, J. (1989). Study of the microbial flora in dry cured ham. III. Lactic acid bacteria. *Fleischwirtsch*, 69, 1708-1710.
- Molinero, C., Martínez, B., Rubio, B., González-Fernández, C., García-Cachán, M.D., Jaime, I. (2008). The anatomical origin of raw meat affects the sensory and chemical characteristic of a dried-cured beef product: Cecina de León. *Food Science and Technology International*, 14: 225-232.
- Møller, J.K.S., Adamsen, C.E., Catharino, R.R., Skibsted, L.H., Eberlin, m.n. (2007). Mass spectrometric evidence for a zinc-porphyrin complex as the red pigment in dry cured Iberian and Parma ham. *Meat Science*, 75, 203-210.
- Møller, J.K.S., Adamsen, C.E., Skibsted, L.H. (2003). Spectral characterisation of red pigment in Italian type dry-cured ham. *Increasing*

Bibliografía

- lipophilicity during processing and maturation. *European Food Research and Technology*, 216, 290-296.
- Monin, G., Marinova, P., Talmant, A., Martin, J.F., Cornet, M., Lanore, D., Grasso, F. (1997). Chemical and structural changes in dry cured hams (Bayonne hams) during processing and effect of the dehairing technique. *Meat Science*, 47, 29-47.
- Moore, S., Stein, W.H. (1954). A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *Journal Biological Chemistry*, 211, 907-913.
- Morita, H., Niu, J., Sakata, R., Nagata, Y. (1996). Red pigment of parma ham and bacterial influence on its formation. *Journal of Food Science*, 61, 1021-1023.
- Morrison, W.R., Smith, L.M. (1964). Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetal from lipids with boron fluoride-methanol. *Journal of Lipid Research*. 5, 600-608.
- Motilva, M.J., Toldrá, F., Nadal, M.I., Flores, J. (1994). Pre-freezing hams affects lipolysis during dry-curing. *Journal of Food Science*, 59, 303-305.
- Mottram, D.S., Croft, S.E., Patterson, R.L.S. (1984). Volatile components of cured and uncured pork: the role of nitrite and the formation of nitrogen compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35, 233-239
- Muñoz de Chávez, J. A., Ledesma, S. (2002). Tablas de valor nutritivo de los alimentos. En *Los alimentos y sus nutrientes. Tablas de valor nutritivo de alimentos.* (pp. 93). McGraw-Hill Interamericana, Mexico.
- Muroya, S., Nakajima, I., Oe, M., Chikuni, K. (2006). Difference in postmortem degradation pattern among troponin T isoforms expressed in bovine longissimus, diaphragm, and masseter muscles. *Meat Science*, 72, 245-251.
- ## N
- Novalbos, J.G. (2000). Disminución del contenido de sodio en los productos cárnicos crudos. Tesis Doctoral. Universidad de Gerona.
- ## O
- Offer, G. (1991). Modelling of the formation of pale, soft and exudative meat: effect of chilling regime and rate of extent of glycolysis. *Meat Science*, 30, 157-187.
- Ordóñez Pereda, J.A. De la Hoz Perales, L. (2001). Embutidos crudos curados. Tipos. Fenómenos madurativos. *Alternativas. Enciclopedia de la carne y productos cárnicos*, vol. II.
- Ordóñez, J.A., Hierro, E.M., Bruna, J.M., De la Hoz, L. (1999). Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. *Critical Review in Food Science and Technology*, 39, 329-367.
- Ordoñez, M. (2001). Influencia de la materia prima sobre la textura del jamón curado. Tesis Doctoral. Universidad de Burgos. Departamento de Biotecnología y Ciencia de los Alimentos.
- Ouali, A. (1991). Sensory quality of meat as affected by muscle biochemistry and modern technologies. En L. O. Fiems, B. G. Cottyn, y D. I. Demeyer (Eds.), *Animal biotechnology and the quality of meat production* (pp. 85-105). Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.
- ## P
- Paleari, M. A., Beretta, G., Colombo, F., Foschini, S., Bertolo, G., Camisasca, S. (2000). Buffalo meat as a salted and cured product. *Meat Science*, 54, 365-367.

Bibliografía

- Paleari, M.A., Moretti, V. A., Beretta, G., Mentasti, T., Bersani, C. (2003). Cured products from different animal species. *Meat Science*, 63, 485-489.
- Parolari, G., Virgili, R., Schivazappa, C. (1994). Relation between cathepsin B activity and compositional parameters in dry cured hams of normal and defective texture. *Meat Science*, 38, 117-122.
- Pearson, A.M., Love, J.A., Shorland, F.B. (1977). Warmed over flavor in meat, poultry and fish. *Advances in Food Research*, 23, 1-7.
- Pedersen, M., Eggen, K., Host, V. (1996). A study on the biochemical composition of different bovine muscles. In *Proceeding 42nd international congress of meat science and technology* (pp.72-73), 1-6 September 1996, Lillehammer, Norway.
- Pegg, R.B., Shahidi, F. (2000). Nitrite curing of meat. The N-Nitrosamine problem and nitrite alternatives. Food and Nutrition Press, Inc., Trumbull, CT. USA.
- Perez-Álvarez, J. A., Sánchez-Rodríguez, M.E., Fernández-López, J., Gago-Gago, M.A., Ruiz-Peluffo, M.C., Rosmini, M.R., Pagán-Moreno, M.J., López-Santoveña, F., Aranda-Catalá, V. (1997). Chemical and colour characteristics of lomo embuchado during salting seasoning. *Journal of Muscle Foods*, 8, 395-411.
- Perry, D., Nicholls, P.J., Thompson, J.M. (1998). The effect of sire breed on the melting point and fatty acid composition of subcutaneous fat in steers. *Journal of Animal Science*, 76, 87-95.
- Pittia, P., Martuscelli, M., Chavez Lopez, C., Munari, M. (2005). Effect of smoking on quality and microbial characteristics of dry cured ham. *Industrie Alimentari*, 44, 1235-1242.
- Poma, J.P. (1987). Importancia de la congelación en la fabricación de jamón curado. *Cárnica* 2000, 48, 26-31.
- Portela, C., Moreno, T., Pérez, N., Monserrat, L. (2005). ITEA, XI Jornadas sobre producción animal/ Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario vol. Extra nº 26, Tomo II, 849-851.
- Powell, W.H. (1991). Quality of beef loin steaks as influenced by animal age, electrical stimulation and ageing. *Meat Science*, 30, 195-205.
- Prandl, O., Foscher, A., Schimidhofer, T., Sinell, H.J. (1994). Microbiología de los productos cárnicos. En: "Tecnología e higiene de la carne" Cap. 6. Editorial Acribia S.A: Zaragoza.

R

- Rennerre, M. (1982). Influence de l'âge et du poids á l'abattage sur le couleur des viandes bovines (races Frisote et Charolaise). *Science des Aliments*, 2, 17-30.
- Rennerre, M. (1990). Review: factors involved in the discoloration of beef meat. *International Journal of Food Science*, 25, 613-640.
- Rico, E., Toldrá, F., Flores (1991). Effect of dry-curing process parameters on pork muscle cathepsins B, H and L activities. *Z. Lebens. Unters. Forsch.*, 193, 541-544.
- Roberts, T.A., Dainty, R.H. (1991). Nitrite and nitrate as food additives: rationales and mode of actions. En: "Nitrate and Nitrites in food and water". Ed.: Michael J. Hill. Ellis Horwood Series in Food and Technology. pp. 13-130.
- Rodríguez, M., Nuñez, F., Córdoba, J.J., Sanabria, C., Bermudez, E., Asensio, M.A. (1994). Characterization of *Staphylococcus* spp. and *Micrococcus* spp. Isolated from Iberian ham throughout the ripening process.

Bibliografía

- International Journal of Food Microbiology, 24, 329-335.
- Rodríguez-Lázaro, D., Capita, R., García Arias, M. T., Hernández Pérez, M., Alonso Calleja, C. (2002). Cecina de León: un alimento nutritivo y saludable. Alimentación Equipos y Tecnología, Abril, 59-69.
- Rovira, J., Ordoñez, M., Jaime, I. (1996). Importancia de la calidad sensorial y presentación en la actitud de los consumidores frente al jamón serrano. Eurocarne, 45, 39-49.
- Rubio, B. (2006). Conservación de productos cárnicos crudos curados mediante envasado con atmósferas modificadas y altas presiones. Tesis Doctoral, Universidad de Burgos, Departamento de Biotecnología de los Alimentos.
- Rubio, B., Martínez, B., González-Fernández, C., García-Cachán, M. D. Rovira, J., Jaime, I. (2006). Influence of storage period and packaging method on sliced dry cured beef Cecina de León: Effects on microbiological, physicochemical and sensory quality. Meat Science, 74, 710-717.
- Rubio, B., Martínez, B., González-Fernández, C., García-Cachán, M. D. Rovira, J., Jaime, I. (2007). Effect of modified atmosphere packaging on the microbiological and sensory quality on a dry cured beef product Cecina de León. Meat Science, 75, 515-522.
- Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Timón, M.L., García, C. (1998). Sensory characteristics of Iberian ham: influence of processing time and slice location. Food Research International, 31, 53-58.
- Ruiz-Carrascal, J. (1996). Estudio de parámetros sensoriales y físico-químicos implicados en la calidad del jamón Ibérico. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura.
- Ruiz-Ramírez, J., Arnau, J., Serra, X., Gou, P. (2005). Relationship between water content, NaCl content, pH and texture parameters in dry-cured muscles. Meat Science 70, 579-587.
- Ruusumen, M., Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. Meat Science, 70, 531-541.

S

- Sanabria, C., Martín-Álvarez, P.J., carrascosa, A. V. (2004). Colour and moisture changes during the manufacture of Iberian dry-cured ham caused by some biotic and abiotic factors. Food Science and Technology International, 10, 269-275.
- Sánchez-Moliner, F. (2003). Modificaciones Tecnológicas para mejorar la seguridad y calidad del jamón curado. Tesis Doctoral. Universitat de Girona.
- Santos, R., Beldarrain, T., Ramos, M. (2004). Preservantes en la industria Cárnica. Revisión y actualización. Alimentaria, 47-55.
- Sañudo, C., Olleta, J.L., Campo, M.M., Alfonso, M., Panea, B. (2000). Determinación instrumental de la calidad de la carne. Propuesta de muestreo. En. Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne de rumiantes, 137-138 (Coords. C. Sañudo y V. Cañeque). Ed. MCyT. INIA. Madrid (España).
- Sárraga, C., Gil, M., Arnau, J., Monfort, J.M., Cusso, M. (1989). Effect of curing salt and phosphate on the activity of porcine muscle proteases. Meat Science 25, 241-249.
- Sárraga, C., Gil, M., Garcia-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 pig. Journal of Science and Food Agriculture 62, 71-75.
- Schivazappa, C., Degni, M., Nanni Costa, L., Russo, V., Buttazzoni, L., Virgili, R. (2002).

Analysis of raw meat to predict proteolysis in Parma ham. *Meat Science*, 60, 77-83.

Sebranek J.G., Fox J.B. 1985. A review of nitrite and chloride chemistry: Interactions and implications for cured meats. *Journal of Science and Food Agriculture*, 36: 1169-1182.

Sebranek, J.G., Bacus, J. (2007a). Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues?. *Meat Science*, 77, 136-147.

Sebranek, J.G., Bacus, J. (2007b). Natural and organic cured meat products: Regulatory manufacturing, marketing, quality and safety issues. *American Meat Science Association White Paper Series*, 1, 1-15.

Serra, X., Ruiz-Ramírez, J., Arnau, J., Gou, P. (2005). Texture parameters of dry-cured ham m. biceps femoris samples dried at different levels as a function of water activity and water content. *Meat Science*, 69, 249-254.

Shackelford, S.D., Purserm, D.E., Smith, G.C., Griffin, C.L., Stiffler, D.M., Savell, J.W. (1992). Lean color characteristics of bullock and steer beef. *Journal of Animal Science*, 70, 465-469.

Shahidi, F., Rubin, L.J., Wood, D.F. (1988). Stabilization of meat lipids with nitrite free curing mixtures. *Meat Science*, 22, 73-80.

Siu, D.C., Henshall, A. (1998). Ion chromatographic determination of nitrate and nitrite in meat products. *Journal of Chromatography*, 804, 157-160.

Sørheim, O., Gumpen, S.A. (1986). Effects of freezing and thawing of pork on salt diffusion in wet and dry-curing system. In: *Proceedings of 32nd European Meeting of Meat Research Works 2*, 295-297.

Szczesniak, A. S. (1963). Classification of textural characteristics. *Journal of Food Science*, 28, 385-389.

T

Tarladgis, B.G. (1961). An hypothesis for the mechanism of the heme catalyzed lipid oxidation in animal tissues. *Journal of American Oil Chemist Society*, 388, 479-483.

Thorainsdottir, K.A., Arasonm S., Geirsdotir, M., Bogason, S.G., Kristbergsson, K. (2002). Changes in myofibrillar proteins during processing of salted cod (*Gadus morhua*) determined by electrophoresis and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry*, 77, 327-335.

Thorvaldsson, K., Skjoldebrand, C. (1996). Water transport in meat during re heating. *Journal of Food Engineering*, 29, 13-21.

Toldrá, F. (1992). The enzymology of dry-curing of meat products. En. *New Technologies for meat and meat products*. (F.J.M. Smulders, F. Toldrá.J. Flores, M. Prieto, eds.). ECCEAMST Audet, Nijmegen. 209 pp.

Toldrá, F. (1998) Proteolysis and lipolysis in flavor development of dry-cured meat products. *Meat Science*, 49, S101-S110.

Toldrá, F. (2004). "Dry-cured ham". *Handbook of food and beverage fermentation technology*. pp.369-384. Editorial: Marcel-Dekker Inc., New York, . USA.

Toldrá, F. (2006a). The role of muscle enzymes in dry-cured meat products with different drying conditions. *Food Science and Technology*, 17, 164-168.

Toldrá, F. (2006b). Biochemical proteolysis basis for improved processing of dry cured meats. *Advanced Technologies for meat processing*. Capítulo 13. pp.329-351. Ed. Taylor y Francis Group, LLC.

Toldrá, F., Aristoy, M. (1993). Availability of essential amino acids in dry-cured ham. *International Journal Science Nutritional*, 44, 215-219.

Bibliografía

- Toldra, F., Flores, M. (1998). The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham. *CRC. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38, 331-352.
- Toldrá, F., Flores, M., Sanz, Y. (1997). Dry-cured ham flavour: enzymatic generation and process influence. *Food Chemistry*, 59, 523-530.
- Toldrá, F., Miralles, M. C., Flores, J. (1992) Protein extractability in dry-cured ham. *Food Chemistry* 44, 391-394.
- Toldrá, F., Rico, E., Flores, J. (1993) Cathepsin B, D, H and L activities in the processing of dry-cured ham. *Journal of Science of Food and Agriculture* 52, 157-162.
- Tompkin, R.B., Christiansen, L.N., Sheparis, A.B. (1978). The effect of iron on botulinal inhibition in perishable canned cured meat. *Journal of Food Technology*, 13, 521-527.
- U**
- UNE (1992). Metodología prueba triangular. Norma española 87006. Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR).
- UNE (1995). Ensayo de clasificación por ordenación. Norma española 87023. Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR).
- UNE 87-004, (1979). Análisis sensorial. Guía para la instalación de una sala de cata. En "Análisis sensorial/ AENOR". Asociación Española de Normalización y Certificación, 1997. AENOR, DL, Madrid.
- UNE 87-024, (1995). Análisis sensorial. Guía general para la selección, entrenamiento y control de jueces. Parte 1: catadores. En: Análisis sensorial/ AENOR. Asociación Española de Normalización y Certificación. AENOR, DL, Madrid.
- UNE-87-013, (1996). Iniciación y entrenamiento de jueces en la detección y reconocimiento de olores. En: Análisis sensorial/ AENOR. Asociación Española de Normalización y Certificación. AENOR, DL, Madrid.
- V**
- Vega Rodríguez, G. (1994). Cecina, alimento natural de alto valor biológico. *Eurocarne*, 30.
- Ventanas, J., Martín, D., Estévez, M., Ruiz, J. (2004). Nitratos y nitritos y nitrosaminas en productos cárnicos. *Eurocarne*, 129, 95-114.
- Ventanas, J., Martín, L., Antequera, T., Timón, M., Córdoba, J.J., Gázquez, A., Gómez, L. (1998). Alcance y consecuencias de la reducción de sal en el jamón. IV Encuentro Intersectorial del cerdo Ibérico. Ed. Excma. Diputación Provincial de Badajoz, Ilmo. Colegio Oficial de Veterinarios de Badajoz. 193-203.
- Vieira, C. (2003). Características de la canal y de la carne de terneros de raza Parda: efecto del nivel de ingestión y del peso al sacrificio. Tesis Doctoral. Universidad de León. Departamento de Producción Animal I.
- Vilar, I., García Fontan, M.C, Prieto, B, Tornadijo, M.E., Carballo, J. (2000). A survey on the microbiological changes during the manufacture of dry-cured lacón, a Spanish traditional meat. *Journal of Applied Microbiology*, 80, 1018-1026.
- Virgili, R., Parolari, G., Schivazzappa, C., Soresi Bordini, C., 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, 1183-11886.
- Von Seggern, D. D., Calkins, C. R., Johnson, D. D., Brickler, J. E., Gwartney, B. L. (2005). Muscle profiling: Characterizing the muscles of

the beef chuck and round. *Meat Science*, 71, 39-51.

W

Wagner, J.R., Anon, M.C. (1985). Effect of freezing rate on the denaturalization of myofibrillar protein. *Journal of Food Technology*, 20, 735-744.

Wakamatsu, J., Okui, Y., Ikeda, T., Nishimura Hattori A. (2004). Establishment of a model experiment system to elucidate the mechanism by which Zn-protoporphyrin IX is formed in nitrite-free dry-cured ham. *Meat Science* 68: 313–317.

Wang, F.S. (2001). Lipolytic and proteolytic properties of dry-cured boneless hams ripened in modified atmospheres. *Meat Science*, 59, 15-22.

Warris, P. D. (2000). Post-mortem changes in muscles and its conversion to meat. En *Meat Science. An Introductory Text.* (pp. 93-105). CABI, London, UK.

Wassermann, A. E., Teller, F. (1972). The effect of sodium nitrite on the aroma of frankfurters, *Journal of Food Science*, 37, 536.

Wood, F.W. (1996). The diffusion of salt in pork muscle and fat tissue. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 17, 138-140.

Y

Yang, H., Ma, Ch., Qiao, F., Song, Y., Du, M. (2005). Lipolysis in intramuscular lipids during processing of traditional Xuanwei ham. *Meat Science*, 71, 670-675.

Yong-Soo, K. (1995). Carcass characteristics and meat quality in forage-finished and grain finished beef-a-mini review. *RDA Journal of Agricultural Science, Livestock*, 37, 573-582.

Z

Zarringhalami, S., Sahari, M.A., Hamidi-Esfehani, Z. (2008). Partial replacement of nitrite by annatto colour additive in sausage. *Meat Science*, 81, 281-284.

Zhang X., Kong B.H., Xiong Y.L.L. 2007. Production of cured meat color in nitrite-free Harbin red sausage by *Lactobacillus fermentum* fermentation. *Meat Science*, 77, 593–598

Zumalacárregui Rodríguez, J.M., Díez Fernández, V.A. (2001). Capítulo 53: Cecina y Tasajo en *Enciclopedia de la Carne de los Productos Cárnicos*. Ed. Martín y Macías, Plasencia (Cáceres).

Zumalacárregui, J.M. (1997). Tecnología del jamón crudo curado. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos* 1, nº 5, 134-138.