



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

Trabajo Fin de Máster

Técnicas de conservación alimentaria en el jamón serrano.

Alumno/a: **Sánchez León, Isabel María**

Tutor/a: Rosario Lucas López

Dpto: Ciencias de la salud

Julio, 2020

ÍNDICE

1. RESUMEN	4
2. ABSTRACT	4
3. INTRODUCCIÓN.....	5
3.1. Productos cárnicos	5
3.1.1. Clasificación de los productos cárnicos	5
3.1.2. Bioquímica y tecnología de la carne.....	7
3.1.3. Química del curado de la carne	8
3.1.4. Aspectos microbiológicos de la carne	9
3.1.5. Microorganismos patógenos de los productos cárnicos.....	11
3.1.6. Contaminación y alteración de la carne	13
3.1.7. Los biofilms en industria cárnica.....	15
3.2. Jamón serrano	17
3.2.1. Parámetros físico-químicos.....	18
3.2.2. Parámetros microbiológicos	18
3.2.3. Microorganismos patógenos del jamón.....	21
3.2.4. Tecnología de elaboración del jamón	23
3.3. Métodos de conservación de la carne	24
3.3.1. Efecto del crecimiento de microorganismos en la carne	25
3.3.2. Método de conservación de refrigeración y congelación	26
3.3.3. Método de conservación de envasado al vacío	28
3.3.3.1. Principios generales del método de conservación del envasado.	28
3.3.4. Método de conservación de envasado en atmósfera modificada.....	29
3.3.4.1. Principios generales del envasado en atmósferas modificadas.	30
3.3.5. Método de conservación de irradiación.....	31
3.3.6. Método de conservación de Altas Presiones Hidrostáticas.....	32
3.3.6.1. Principios generales del tratamiento APH.....	32
3.3.6.2. Inactivación de microorganismos patógenos.....	34
3.3.6.3. Aplicaciones de APH en alimentos.....	36
3.3.6.4. Aplicaciones de APH en productos cárnicos	38
4. OBJETIVOS.....	41
5. MATERIAL Y MÉTODOS	42
5.1. Refrigeración y congelación.....	42
5.2. Envasado al vacío.....	43
5.3. Envasado en atmósferas modificadas.	44

5.4.	Irradiación	46
5.5.	Altas presiones hidrostáticas	47
5.5.1.	Método de altas presiones hidrostáticas sobre color y estabilidad oxidativa del jamón.....	47
5.5.2.	Método de altas presiones hidrostáticas en la composición de ácidos grasos en jamón	49
5.5.3.	Método de altas presiones hidrostáticas para la minimización de riesgos asociados con <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella</i> en embutido.....	50
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
6.1.	Refrigeración y congelación.....	50
6.2.	Envasado al vacío.....	54
6.3.	Envasado en atmósferas modificadas	58
6.4.	Irradiación	60
6.5.	Altas presiones hidrostáticas	63
6.5.1.	Método de APH sobre color y estabilidad oxidativa del jamón	63
6.5.2.	Método de APH en la composición de ácidos grasos en el embutido	66
6.5.3.	Método de APH para la minimización de riesgos asociados con <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella</i> en embutido	68
7.	CONCLUSIONES.....	72
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	74

1. RESUMEN

El estudio, se ha realizado mediante una búsqueda bibliográfica de varios artículos en los que se habla de diferentes tipos de conservación del jamón serrano en general, sobre el embutido y carne res. El jamón es un derivado del cerdo que es considerado de alta calidad y además de un gran valor económico. El proceso de elaboración y de conservación del jamón, puede dar lugar a diferentes tipos de este, aunque la elaboración principal del jamón es la misma para todos.

Se han llevado a cabo varios estudios donde hablan de la conservación del jamón desde diversos puntos, en unos se ha valorado más el efecto que se ha obtenido en el color y sabor del producto, una vez sometido al tratamiento, y en otros se ha valorado el cambio en la composición y la inhibición de microorganismos que han ido creciendo en el alimento, y como su disminución tras someterlo a estas técnicas de conservación alimentaria.

Palabras clave: Jamón, conservación, alimentaria, tratamiento.

2. ABSTRACT

The study was carried out by means of a bibliographic search of several articles in which different types of conservation of Serrano ham in general are discussed, about sausage and beef. Ham is a derivative of pork that is considered of high quality and also of great economic value. The process of making and preserving ham can give rise to different types of it, although the main production of ham is the same for everyone.

Several studies have been carried out where they talk about the conservation of ham from different points, in some the effect that has been obtained on the color and flavor of the product, once subjected to the treatment, has been more valued, and in others it has been valued the change in the composition and the inhibition of microorganisms that have been growing in the food, and how its decrease after subjecting it to these food preservation techniques.

Key words: Ham, conservation, food, treatment.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. Productos cárnicos

Desde los primeros tiempos los seres humanos han satisfecho sus deseos de hambre con alimentos de origen animal. El valor que se le ha dado a la carne hasta hoy día no solo ha sido por su sabor, si no que por su alta importancia como nutriente. La carne además es una gran fuente de proteína para los músculos, debido a que contiene todos los aminoácidos necesarios para el ser humano, es decir, para la formación y desarrollo de sus tejidos (Hultin, 1993).

Se define como carne aquella parte comestible, limpia y sana de los músculos de varios animales los cuales utilizamos para la alimentación que son: bovinos, porcinos y ovinos. Estos animales deben de ser aptos para la alimentación humana, tras la inspección veterinaria oficial (Sánchez, 2007).

3.1.1. Clasificación de los productos cárnicos

Los productos cárnicos se pueden clasificar de formas diversas, las diferencias que se establecen entre ellos se debe a tipos de materia primas que componen la carne, si están o no embutidos y la estructura de su masa. También pueden diferenciarse en si han sido o no sometidos a calor u otro tipo de proceso de elaboración tecnológico, es su duración y en la forma del producto una vez que se ha terminado (Carballo *et al.*, 1991).

En productos crudos cuando se utilizan procesos de fermentación, curado o secado, se producen cambios deseables en sus características organolépticas, además de eso también se garantiza una seguridad sanitaria (Flores, 1977). Los productos cárnicos se pueden clasificar en:

- Productos cárnicos crudos: estos han sido sometidos a un proceso tecnológico pero no lleva tratamiento térmico.
 - Productos cárnicos crudos y frescos: estos son elaborados con carne y grasa molida, a ellos se les puede añadir o no aditivos permitidos. Por ejemplo: hamburguesas.

- Productos cárnicos crudos fermentados: son elaborados con carne y grasa picada o piezas de carne íntegra, que son sometidas a un proceso de maduración que cambia sus características organolépticas y que además lleva añadido cultivos iniciadores y aditivos. Por ejemplo: chorizos.
- Productos cárnicos crudos salados: son elaborados con piezas de carne que han sido conservados por medio de un transcurso de salado.
- Productos cárnicos tratados con calor: son aquellos que han sido sometidos a algún tratamiento de calor.
 - Productos cárnicos embutidos y moldeados: son elaborados con un tipo de carne o con una mezcla de 2 o más variedades, sea cruda o cocinadas, y que son colocados en tripas naturales o moldes artificiales y que se someten a un tratamiento de curado.
 - Piezas íntegras curadas y ahumadas: elaboradas con piezas enteras y aditivos, que pueden tener además una adición de extensores, y presentan un papel principal, los curados, cocidos y ahumados. Por ejemplo: jamones.
 - Productos cárnicos semielaborados: elaborados con carne picada, que puede llevar adición de tejido graso, extensores y aditivos permitidos, y que además han recibido un tratamiento térmico durante su elaboración. Por ejemplo: croquetas.
 - Conservas cárnicas: se trata de la carne que se encuentra adecuadamente en envases cerrados, herméticos, ya sean latas, tripas artificiales u otros envases, y que pueden ser almacenados por mucho tiempo (Hechermann *et al.*, 1991).
 - Semiconservas cárnicas: son aquellas sometidas a un proceso de pasteurización y que pueden tener una vida útil comercial de 6 meses si se encuentran almacenadas a 5°C.
 - Tres-cuartos conservas cárnicas: son aquellas que reciben un proceso de esterilización en el que las

temperaturas se encuentran entre 106-112°C, pueden alcanzar un F0 entre 0,6 y 0,8.

- Conservas cárnicas plenas: son aquellas que reciben un proceso de esterilización de F0 entre 4.0 y 5.0, y pueden durar hasta 4 años a 25°C.
- Conservas cárnicas tropicales: estas reciben un tratamiento de esterilización F0 entre 12.0 y 15.0, este tipo de carne puede durar 1 año a 40°C.
- Productos cárnicos autoestables: este tipo de carne recibe un tratamiento térmico moderado que se combina con otros factores de conservación y que están regulados, como el pH, la actividad del agua, el contenido de nitrito y el potencial redox. Estos pueden conservarse durante 1 año en refrigeración. Por ejemplo: Productos en salsa.

3.1.2. Bioquímica y tecnología de la carne

Según Sánchez (2007), el tejido muscular de la carne se encuentra formada por las fibras, que son unas células gigantes que se mantienen unidas mediante una membrana llamada estrona.

La carne se compone de:

- Proteínas: que se encargan de ligar agua, emulsionar grasas y darle sabor, textura y color. Dentro de la carne pueden distinguirse distintos tipos de proteínas:
 - Proteínas musculares, que a su vez pueden ser contráctiles o solubles del sarcoplasma.
 - Proteínas insolubles del tejido conjuntivo, en las que se encuentran el colágeno y la elastina.
 - Nucleoproteínas, estas forman el material genético de la célula.
- Grasa: puede ser extracelular, gotitas finas o intramuscular.
- Carbohidratos: en forma de glucógeno solo en el vacuno y alcanza un 1%.

- Agua: en la carne podemos diferenciar dos tipos de agua, el agua de hidratación (ligada a proteínas hidrosolubles) y el agua libre (esta actúa como un cuerpo sólido).
- Sales minerales: desempeña un importante papel los iones de calcio para desarrollar la rigidez cadavérica. Los iones calcio se pueden liberar si la carne es congelada antes del rigor mortis, debido a que durante el deshielo o congelación, provoca una fuerte contracción de las fibras musculares.
- Componentes del sabor y aroma de la carne: en la carne cruda solo se desarrolla un débil aroma durante las 2-3 horas post-mortem. Sin embargo durante la cocción y el asado de la carne se experimentan un gran número de sustancias químicas, que pueden ser fijas o volátiles, que determinan el sabor y aroma de la carne sometida al calor.
- El pH de la carne: durante las primeras horas tras la matanza se experimenta un gran descenso del pH en la carne, podemos hablar de que en el músculo vivo se alcanzan unos valores entre 6.5-7.5 y baja hasta 5.4-5.8. Por otro lado, la zona de pH entre 5.4-5.8 garantiza algunas ventajas como una buena curación, estabilidad del color y una óptima durabilidad de producto curado.

3.1.3. Química del curado de la carne

Para presentar una buena apariencia y color en los alimentos de cara al consumidor, se debe de desarrollar en la carne unos pigmentos naturales o bien agregarle algunos colorantes. A la carne se le adiciona nitritos y nitratos para el proceso de curado. Las funciones que llevan a cabo los nitritos durante el curado de la carne son:

- El desarrollo de un color rosa estable.
- Acción antioxidante.
- Un sabor representativo.
- Una textura característica que lo hace diferente a la de la carne cuando se encuentra fresca (Quing-Li *et al.*, 2007).

- Protege del desarrollo de algunas bacterias (Canssens *et al.*, 1978, Osterlie y Lerfall, 2004).

El color de los productos cárnicos se produce cuando hay reacciones entre la carne y los nitratos (NO^3) o nitritos (NO^2) que han sido añadidos y estas reacciones forman nitroso hemo-pigmentos (NOHP) (Sakata y Nagata, 1992).

En cuanto a la adición de nitritos y nitratos que venimos comentando, podemos encontrar pros y contras. Hoy en día sabemos que los nitritos en altas concentraciones inhiben el crecimiento de algunos microorganismos aerobios como son: *Lactobacillus plantarum*, *Staphylococcus carnosus* y *Pediococcus acidilactici*.

Estos microorganismos cuando se encuentran en concentraciones mayores de 50 ppm detienen su crecimiento y mueren tras un periodo de 8 días de maduración (Erkmen y Bozkurt, 2004). En algunas bacterias se necesita concentraciones muy grandes de nitrato o de nitrito para retrasar la velocidad de crecimiento como por ejemplo esporas de *Bacillus* y *Clostridium botulinum*, debido a que estas bacterias necesitan concentraciones de unos 300 ppm de nitritos para poder lizar las células, ya que si tenemos una concentración menor, solo se retrasará el crecimiento de ellas (Sofos *et al.*, 1979; Pierson *et al.*, 1982).

Sin embargo, el uso de nitritos y nitratos muestra una buena ventaja, debido a que inhibe la producción de toxinas que son producidas por *Clostridium botulinum* (Canssens *et al.*, 1978).

3.1.4. Aspectos microbiológicos de la carne

La carne principalmente si está cruda, es muy susceptible a deteriorarse debido a que es una de las principales fuentes de crecimiento de microorganismos, los cuales perjudican los alimentos. Estos microorganismos pueden ser patógenos o no patógenos, en el caso de estos últimos además de su crecimiento pueden producir una propagación

de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) (Bhandare et al., 2007).

Como hemos mencionado con anterioridad la carne, es un alimento que tiende con facilidad a contaminarse, y en el cual proliferan muy bien las bacterias. En la carne fresca, aunque se encuentre en refrigeración, pueden llegar a crecer muchos microorganismos que pueden alterar el producto como *Acinetobacter*, *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *enterobacterias*, *Lactobacillus*, y otras bacterias que además de alterar el producto son patógenas para el ser humano, como *Staphylococcus*, *Carnobacterium* y *Leuconostoc* (Aymerich y Hugas, 1998).

Se puede decir que la carne es un alimento caduco debido a que posee algunas propiedades de importancia microbiológica que hacen que puedan ser un gran medio para crecimiento de microorganismos. Las propiedades más importantes que se destacan de este tipo de alimento son: los nutrientes, ya que la carne proporciona muchos aminoácidos, carbohidratos, ácido láctico y proteínas entre otros; otra propiedad es la actividad del agua, debido a que la carne fresca proporciona un valor cerca de los 0,99, este valor es muy apropiado para las bacterias; otra gran propiedad es el potencial de óxido-reducción, en la cual una vez que el animal haya muerto, encontramos en el exterior un gran medio para el crecimiento de flora aeróbica y en el interior el crecimiento de flora anaeróbica, tanto que una vez que muere el animal el potencial redox disminuye, lo que produce que la masa de carne del interior del animal pase a ser anaeróbica; y por último otra propiedad principal es el pH, la carne tiene una variación entre 5.0-7.0, normalmente un pH menor de 5.5 no favorece el crecimiento de la mayoría de las bacterias (Sánchez, 2007). Podemos diferenciar los distintos tipos de bacterias que proliferan en la carne según el estado en el que se encuentren: las carnes frescas normalmente son infectadas por bacterias que requieren una alta actividad del agua; en las carnes deshidratadas por el contrario predominan los microorganismos que requieren una baja actividad del

agua, como es el caso de los hongos; en las carnes curadas suele prevalecer los microorganismos sal-tolerantes como son *Micrococcus* y *Lactobacillus*; y por último en las carnes cocidas, normalmente predominan cepas termoresistentes (Sánchez, 2007).

3.1.5. Microorganismos patógenos de los productos cárnicos

Los microorganismos que hasta el día de hoy han causado más brotes en el consumo de carne, incluyen *E.coli* O157:H7 y no O157 (productoras de toxina shiga (STEC)), *Campylobacter*, *Yersinia*, *Salmonella*, *Listeria* y *Clostridium perfringens* (Koohmaraie et al., 2005).

Se ha implantado que para poder combatir con bacterias como *Listeria monocytogenes*, *Clostridium spp* y *S.aureus*, se debe de realizar las intervenciones durante las últimas fases de la producción de carne (Nørrung et al., 2009).

Los principales microorganismos patógenos en productos cárnicos son:

- *E. coli* O157:H7: se trata de un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo de la familia de las enterobacterias. Este microorganismo fermenta la glucosa y la lactosa. Las cepas de esta bacteria son móviles normalmente, aunque también existen algunas que son inmóviles (Croxen et al., 2013). A pesar de ser un microorganismo presente en la microflora de los humanos, también existen grupos patogénicos que causan diarrea. Estos son conocidos como *E. coli* diaerrogénicas (DEC). También según los factores de virulencia que produzcan encontramos *E. coli* enteroagregativa (EAEC), de adherencia difusa (DAEC), enteropatogénica (EPEC), enteroinvasiva (EIEC), enterotoxigénica (ETEC) y productoras de toxina shiga (STEC), estas últimas además incorporan un subgrupo enterohemorrágico (EHEC) (Kaper et al., 2004).

La dosis infectiva se encuentra entre 10-100 bacterias por gramo de alimento, aunque depende de la susceptibilidad del hospedador

(Scheutz y Strockbine, 2005). Normalmente los síntomas son una diarrea común, aunque puede haber complicaciones en las cuales puede avanzar hasta ocasionar una infección urinaria, meningitis, septicemia o incluso el síndrome urémico hemolítico (SUH). (Croxen y Finlay, 2007).

- *Salmonella*: es una bacteria Gram negativa, pertenece a la familia de las enterobacterias, presenta una forma bacilar y no forma esporas, es anaerobia facultativa y tiene flagelos móviles, pero hay algunas cepas que son inmóviles (Jurado Jiménez *et al.*, 2010). Esta bacteria produce una enfermedad llamada salmonelosis, son frecuentes en el consumo de carne molida que ha sido contaminada por la bacteria. Este microorganismo es el segundo que más infecta a los seres humanos, se ha estudiado que una de cada seis personas se infecta por patógenos que han sido transmitidos a raíz de comer alimentos contaminados por *Salmonella* (Scallan *et al.*, 2011). Normalmente los alimentos que se contaminan con más facilidad de este microorganismo son la carne, el huevo, el pescado, las aves de corral y productos frescos, debido a ellos estos alimentos han sido identificados como responsables de brotes por este microorganismo patógeno (CDC, 2006; McLaughlin *et al.*, 2006).
- *Listeria monocytogenes*: esta bacteria es un bacilo Gram positivo, no forma esporas y tiene la capacidad de sobrevivir a temperaturas de refrigeración. Produce una enfermedad llamada listeriosis que normalmente afecta a personas de mayor edad, fetos y personas inmunológicamente deprimidas. Este microorganismo ha sido clasificado con más de 13 serotipos, más del 95% de los patógenos aislados de personas que han sufrido listeriosis correspondieron con los serotipos 1/2a, 1/2b y 4b, aunque los serotipos 1/2a y 1/2c son aislados en alimentos y muestras ambientales de la industria alimentaria (Kathariou, 2002; Vázquez-Boland y col., 2001). Esta bacteria tiene la capacidad de entrar y sobrevivir en muchas células debido a múltiples estrategias para utilizar algunos mecanismos moleculares de la persona infectada. Se encuentra

muy distribuido por la naturaleza y normalmente contamina productos crudos o alimentos que no han sido sometidos al calor, como hemos mencionado antes tiene una alta capacidad para sobrevivir en ambientes de mucho frío (Cressy *et al.*, 2003). La enfermedad que causa este microorganismo es relativamente rara debido a que tiene una incidencia anual de $<1/100,000$ habitantes (De Valk *et al.*, 2005). Pero cuando esta bacteria causa listeriosis alcanza una alta mortalidad entre el 20-50% (Schlech y Acheson, 2000). Las manifestaciones clínicas que produce la enfermedad de la listeriosis son encefalitis, septicemia, aborto y meningitis.

Cada vez hay más mecanismos que se encuentran involucrados en la aparición de listeriosis, y cada vez son más complejos, por lo que a su vez se llevan a cabo controles microbiológicos más estricto, por ejemplo, e algunas empresas de Estados Unidos mantienen a una tolerancia cero en este microorganismo en los productos que son importados al país.

3.1.6. Contaminación y alteración de la carne

Según Sánchez (2007) cuando existe un desarrollo microbiano tiende a aparecer un deterioro del alimento que se traduce en una contaminación que puede producir un riesgo para el consumidor, debido a la apariencia de microorganismos patógenos.

En el caso de la carne normalmente los tejidos del animal suelen estar sanos a excepción de la superficie externa, del tracto intestinal y del tracto respiratorio, esto se debe a los mecanismos de defensa del animal vivo. Cuando se realiza la matanza, el procesado, almacenamiento y distribución del producto, aumenta la carga microbiana, ya que se encuentra expuesta a la contaminación como:

- Contacto con vísceras, contenido estomacal o intestinal.
- Equipos de procesamiento, que pueden tener microorganismos patógenos.
- Manipulación humana (trabajadores).

- Agua de lavado
- Contacto con pelos, piel o leche del animal.
- Aire ambiental.

Se puede decir que partiendo del estado en el que se encuentre la carne se puede alterar por diferentes tipos de microorganismos, aunque también la contaminación puede deberse a los distintos procesos de conservación de la carne fresca.

Normalmente en el proceso de curado se controla con facilidad la flora alterante normal, frena el desarrollo de microorganismos patógenos y se encarga de dar las características organolépticas propias de este alimento.

DEFECTOS Y SUS CAUSANTES MICROBIANOS EN CARNE Y SUS PRODUCTOS

PRODUCTO	DEFECTO	MICROORGANISMO
Carne fresca (refrig. 0°-5°C.)	Olor desagradable, limosidad y decoloración.	<i>Pseudomonas</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Alteromonas</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactobacillus</i> y <i>Levaduras</i> .
	<i>Lipolisis</i>	<i>Pseudomonas</i> , <i>Levaduras</i> .
	Puntos negros, puntos blancos.	Hongos (<i>Penicillium</i> , <i>Cladosporium</i>).
Carne fresca (15°-40°C).	Hueso fétido, gas, olor desagradable.	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Clostridium histolyticum</i> , <i>Clostridium sporogenes</i> .
Carne envasada al vacío.	Acidez y limosidad	Bacterias ácido lácticas
	Abombada	<i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Enterobacterias</i> .
Tocino	Acido, rancidez	<i>Micrococcus</i>
	Decoloración	Hongos
	Sabor ácido	Bacterias ácido lácticas
	Putrefacción	<i>Micrococcus</i> , <i>Clostridium sporogenes</i> .
Jamón	Limo	<i>Micrococcus</i> , <i>Levaduras</i>
	Decoloración verde	<i>Lactobacillus</i>
	Acido	<i>Leuconostoc</i>
	Putrefacción	<i>Clostridium</i>
	Superficie mohosa	Hongos
Salchichas	Limo	Psicrófilos, <i>Levaduras</i> , <i>Micrococcus</i> .
	Enverdecimiento	<i>Lactobacillus</i> , <i>Lactobacillus viridescens</i> , <i>Leuconostoc</i> .
Embutidos fermentados	Limo	<i>Levaduras</i>
	Manchas negras u otro color	Hongos
Enlatados comercialmente estériles.	Gas y putrefacción	Bacterias esporuladas, <i>Bacillus</i> y <i>Clostridium</i> .
Semiconservas	Acidez, decoloración	<i>Streptococcus</i>
	Gas, putrefacción	<i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> .

Figura 1. Defectos y sus causantes microbianos en carne (Adaptado de Frazier, 1972).

3.1.7. Los biofilms en industria cárnica

Los biofilms están definidos como aquellas comunidades de microorganismos que crecen adheridos en una superficie ya sea viva o inerte, y que puede estar formadas por una especie de microorganismos o de especies distintas (Kraigsley *et al.*, 2002). Los biofilms son una estrategia de los microorganismos para adaptarse, debido a que su crecimiento les ofrece algunas ventajas:

- Protege a las bacterias de la acción de otros agentes desfavorables.

- Aumenta la disponibilidad de nutrientes para poder crecer en ese medio.
- Aprovecha el agua para reducir a su vez la posibilidad de deshidratarse.
- Facilita la transmisión de material genético (ADN).

Estas características que poseen los biofilms ayudan a que se incremente la capacidad de supervivencia. Muchos de los métodos que se utilizan para desinfectar algunas zonas de las industrias alimentarias pueden ser ineficaces contra las bacterias que se encuentran en estos biofilms (Costerton *et al.*, 1999; Donlan, 2002).

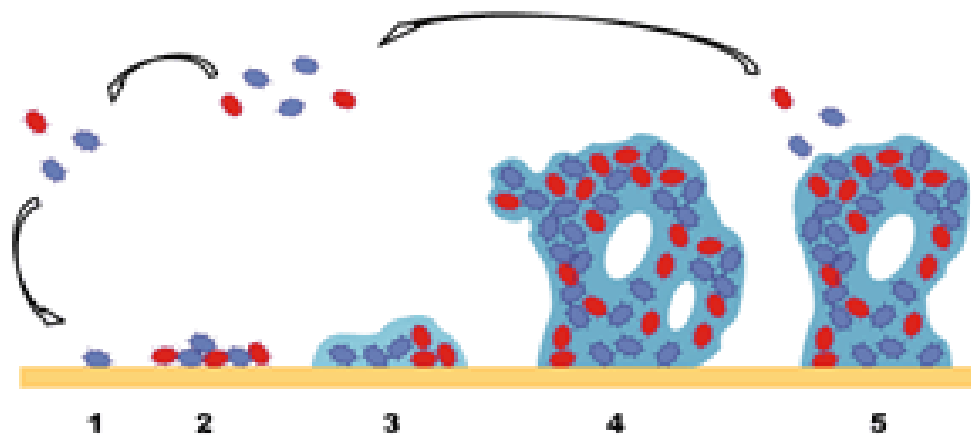


Figura 2. Fases de la formación de un biofilm. (Adaptado de Peg Dirckx y David Davies, 2003. Center for Biofilm Engineering Montana State University).

Los biofilms se pueden encontrar en cualquier superficies que haya bacterias, pueden aparecer solo con que en una zona haya mucha humedad, que esté hidratado y que además haya nutrientes, debido a que estas bacterias pueden proliferar en cualquier tipo de superficie (Kraigsley *et al.*, 2002; Terry *et al.*, 2003).

Para la formación de biofilm se necesita llevar a cabo un proceso dinámico y complejo, por lo que se necesita que los microorganismos se

adhieran, colonicen y crezcan. Durante este proceso se pueden observar distintas fases:

- La absorción variable de una bacteria a la superficie.
- Unión de varias bacterias mediante creación de una matriz polimérica.
- Una fase en la que los microorganismos maduren, crezcan y se dividan.
- Una producción de exopolímero.
- Un desarrollo de la colonia, que a su vez esparza células colonizadoras (Kumar y Anand, 1998).

Un lugar muy común en la que pueden proliferar bacterias y producir biofilms es en la industria alimentaria, debido a que estos pueden formarse en todo tipo de superficie que presente una hidratación adecuada, como es el caso de plásticos, cristales, metales, madera y sobretodo sobre los alimentos (Chmielewsky y Frank, 2003).

Pero estos biofilms pueden constituir un riesgo para la salud a causa de que muchos de ellos se pueden formar por microorganismos patógenos los cuales presentan más resistencia cuando se les aplica un desinfectante o un antibiótico. Además, esto incrementa la contaminación de los alimentos y pueden dar lugar a intoxicaciones alimentarias (Carpentier y Cerf, 1993; Fuster i Valls, 2006).

3.2. Jamón serrano

Un método de conservación que ha sido utilizado por un largo tiempo para la carne y derivados cárnicos, ha sido el salado y por consiguiente la deshidratación. Este tratamiento es muy común en alimentos como son el embutido seco, como es el caso del salami, o en otros productos cárnicos como son el jamón serrano y el bacon. En España, el jamón es un derivado del cerdo que es considerado de alta calidad y además de un gran valor económico.

El proceso de elaboración del jamón, puede constituir diferentes tipos de este, aunque la elaboración del jamón es la misma para todos. La gran receta para llevar a cabo la curación del jamón es el cloruro sódico, además de otras sales, nitritos, nitratos, etc. (Órdoñez, 1993). España, tiene un gran consumo de este producto cárnico, debido a que se consumen unos 20 millones de jamones al año. Los cerdos sacrificados pueden ser de dos tipos: blanco e ibérico.

Según Órdoñez (2007), dentro de la geografía de España podemos encontrar grandes tipos de jamones, que podemos clasificar en:

- Jamones que proceden de cerdos blancos: en esta categoría encontramos híbridos de las razas Pietrain, Landrace, Duroc, etc. Y obtenemos jamón de Teruel, jamón andorrano, jamón de Burgos, jamón riojano, jamón de Trévelez (Granada), jamón murciano.
- Jamones que proceden de cerdos negros: encontramos de raza Retinta ibérica, jamón Montánchez (Cáceres), jamón de Avila, jamón de Piornal (Cáceres), jamón ibérico (Huelva, Badajoz, Salamanca).

3.2.1. Parámetros físico-químicos

Normalmente, los valores de pH que son considerados óptimos están entre 5.5 y 6.0, por el contrario si este pH aumenta, puede afectar tanto al punto de vista organoléptico como el microbiológico. En cuanto a la temperatura no es recomendable que alcance valores superiores a 6°C (Huerta *et al.*, 1987). Y por otro lado, la humedad debe de cambiar durante el salado, reposo y curado, así como una disminución de 5,88%, 9,96% y 31,72%. (Hernández *et al.*, 1993).

3.2.2. Parámetros microbiológicos

En el jamón predominan microorganismos como bacterias ácido-lácticas, aerobios totales, halotolerantes y levaduras. Estas bacterias y levaduras, aumentan su número de colonias en la segunda y tercera etapas. En algunos estudios, según Giolitti (1971) se ha observado que en otros países durante el proceso de curado, hay un bajo número de bacterias ácido-lácticas en jamones curados.

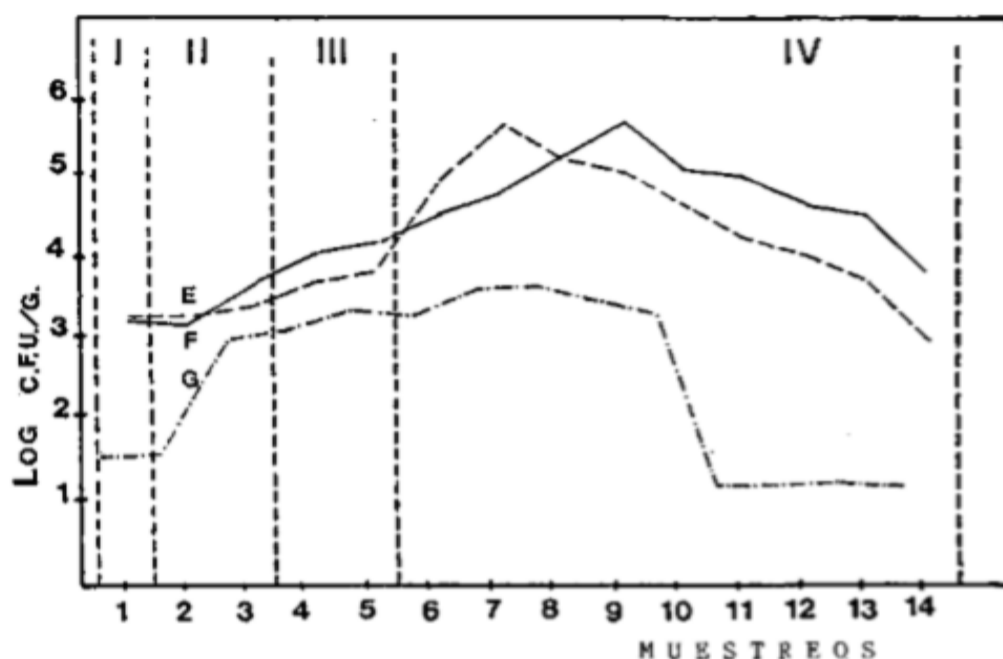


Figura 3. Recuentos de microorganismos de la elaboración del jamón. E: Bacterias lácticas en superficie. F: Levaduras en superficie. G: Bacterias lácticas en profundidad. I: Presalado. II: Salado. III: Reposo. IV: Curado. (Hernández *et al.*, 1993).

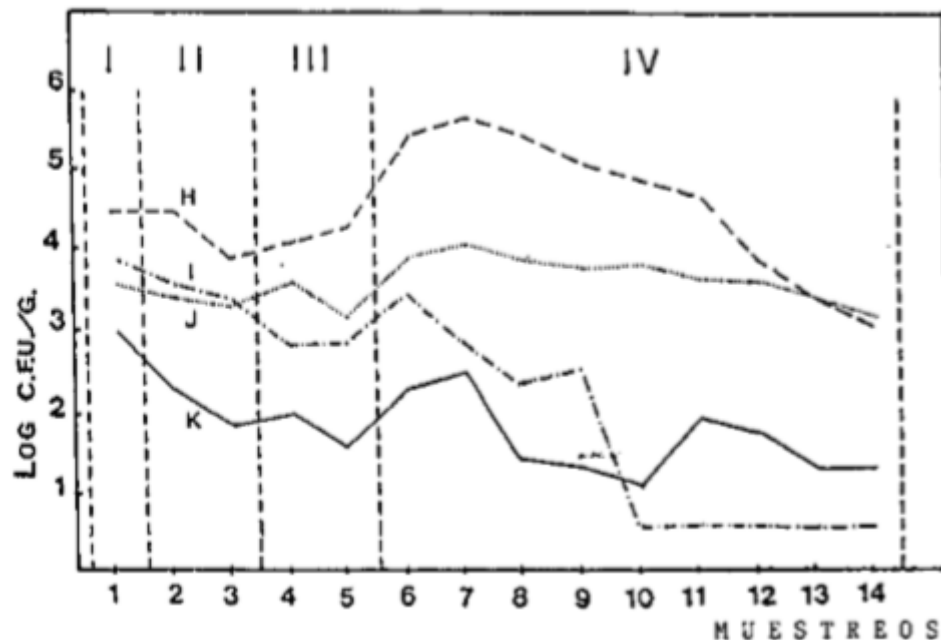


Figura 4. Recuentos de microorganismos de la elaboración del jamón. H: Estreptococos fecales. I: Coliformes. J: *Bacillus cereus*. K: Anaerobios sulfito reductores. I: Presalado. II: Salado. III: Reposo. IV: Curado. (Hernández *et al.*, 1993).

Los coliformes son utilizados para indicar la contaminación fecal que presenta el jamón, estos han sido investigados por muchos investigadores. El género *Salmonella* entre otros, no aparece en la gráfica debido, a que se trata de un microorganismo que se ve muy afectados por la baja actividad de agua a lo largo del secado del jamón, entre otras condiciones desfavorables.

En el caso de los enterococos, que a pesar de tener una gran resistencia a las bajas temperaturas y a la sal, aparecen con gran frecuencia aquellos que se encuentran relacionados con la salud, como son *E.faecalis* y *E.faecium*. Estos microorganismos se encuentran identificados en todas las etapas del curado del jamón (Giolitti *et al.*, 1971). Sin embargo, las bacterias que pertenecen a la especie *Clostridium perfringens* y *Bacillus cereus*, se encuentran en proporciones bajas, sobretodo en la fase del salado.

Por otro lado, podemos hablar de los mohos y levaduras en los productos cárnicos. Durante el curado del jamón, se permiten crecimiento de mohos y levaduras a nivel superficial (Huerta *et al.*, 1987). Estos microorganismos han sido examinados durante la elaboración de este producto cárnico y ha habido debates sobre sus efectos favorables o desfavorables.

Según Mintzlaff (1972), la presencia de estos microorganismos contribuyen a un lento curado pero uniforme, en el cual actúan inhibiendo microorganismos patógenos como es el caso de *Staphylococcus aureus*. Pero el hecho de que algunas especies de estos microorganismos puedan originar metabolitos fúngicos, hace que algunos autores como el caso de Cantoni (1982), los considere inaceptables en este producto cárnico.

Mohos	Muestras positivas	%	Núm. de muestras positivas
<i>Aspergillus</i> spp	59	56,73	37
<i>Penicillium</i> spp	51	49,04	41
<i>Cladosporium herbarum</i>	18	17,30	9
<i>Alternaria tenuis</i>	10	9,61	6
<i>Fusarium moniliforme</i>	9	8,65	4
<i>Geotrichum candidum</i>	7	6,73	3
<i>Rhizopus nigricans</i>	5	4,80	5
<i>Micelia sterilia</i>	7	6,73	—

Figura 5. Incidencia de mohos aislados de 104 muestras de jamones durante la elaboración.

Según Baldini (1977), podemos observar también en la figura 5 que microorganismos como *Penicillium* y *Aspergillus*, se encuentran en grandes proporciones en los jamones. También *Cladosporium* es una familia que se encuentra con gran facilidad en estos productos cárnicos, pero el resto de microorganismos puede variar y aparecer o no en los jamones.

3.2.3. Microorganismos patógenos del jamón

Normalmente, en los productos cárnicos se adquiere una estabilidad microbiana que modifica los factores de conservación reduciéndose así la actividad del agua y pH, la adición de microorganismos competentes y agentes microbianos y uso de temperatura de refrigeración.

Los microorganismos patógenos que se pueden encontrar en el jamón son *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* spp, *Listeria monocytogenes*, entre otros, estos son un grupo menor, pero estos microorganismos pueden causar enfermedades entéricas y sistémicas. En la carne se puede observar un gran número de fuentes de contaminación, como por ejemplo, la tierra, el tracto intestinal, la ropa y manos del trabajador, el rebanado y empaado, etc. Estas fuentes provocan cambios en la composición y calidad del producto, pero la flora microbiana es peculiar debido a los factores que la controlan como por ejemplo, el pH, oxígeno disuelto y la temperatura (Dykes et al., 1991).

Un componente que puede ser de gran utilidad para la inactivación de *Listeria monocytogenes*, son las sales del lactato, debido a que disminuyen la actividad del agua, lo que reduce el contenido de cloruro de sodio, por lo que así se inhibe dicha bacteria, también inhiben bacterias como *Yersinia enterocolítica*, *Salmonella*, *BAL*, *Clostridium* y *Staphylococcus aureus*. Particularmente, la combinación de ingredientes como los nitritos y el cloruro de sodio han permitido que se controlen microorganismos deteriorantes y patógenos que contaminan los alimentos.

Una de las bacterias más estudiadas en productos cárnicos ha sido *Listeria monocytogenes*, esta ha sido estudiada debido a su tolerancia a la sal, su crecimiento en almacenamiento refrigerado y la habilidad para crecer en diversas superficies. Por otro lado, en el caso de *Yersinia enterocolítica* y *Salmonella*, estas bacterias tienen un mayor rango para el cloruro de sodio y nitritos, dentro de esto ocurre el crecimiento de *Bacillus cereus* que crece con poca cantidad de cloruro de sodio (Kilcast y Angust, 2007). Sin embargo, la inactivación de *Clostridium botulinum* se ve influenciada por el nivel de sal, pero los nitritos son indispensables para su crecimiento. Además *C.botulinum* depende del pH del producto, de la temperatura en el que se encuentre almacenado, el proceso de calor y el uso de aditivos (Hill, Chem y Path, 1996).

Según Portocarreto, Newman y Mikel (2002), tras su estudio demuestran que un alto contenido de sal y una gran actividad de agua reducen el crecimiento de *S. aureus* en el jamón curado que se ha conservado a 28°C durante 234 días. En productos curados normalmente, se observa un crecimiento de microorganismos como *Listeria monocytogenes* y *BAL*. Generalmente, en productos cárnicos prevalece el crecimiento de bacterias como, *Pseudomona spp.* y *Acchromobacter* que son las encargadas de producir el aroma indeseable. La producción de gas (CO₂) se debe al crecimiento de *Leuconostoc spp.* (Yan y Ray, 1994). También se encuentran bacterias homofermentativas como *Lactobacillus spp.*, *Leuconostoc spp.*, y *Lactobacillus sakei*, que se encargan de formar

biopelículas microbianas y que se pueden observar antes de la fecha de caducidad del producto (Alves *et al.*, 2006).

3.2.4. Tecnología de elaboración del jamón

Para elaborar el jamón podemos hablar principalmente de dos objetivos:

- Lograr una estabilización: de esta forma el producto previene ser alterado manteniéndose a temperatura ambiente, de esta forma no produce ningún factor perjudicial para el consumidor.
- Desarrollar las características organolépticas adecuadas para satisfacer al consumidor.

Para conservar el jamón adecuadamente intervienen factores como es la temperatura, pH y la actividad del agua (Leistner, 1985). Como hemos mencionado antes, para elaborar un buen jamón, necesitamos seguir los siguientes pasos:

- Seleccionar la materia prima.
- Llevar a cabo el salado.
- Reposar el producto.
- Secado-maduración.

Para obtener un buen producto y por consiguiente una buena calidad de la carne que posteriormente será utilizada para producir el jamón, se debe de evitar el uso de jamones con un $\text{pH} < 6.2$. Para ello se ha de realizar un control al entrar a la fábrica. Los jamones, que tengan ese pH deberán de tener una etapa más de reposo, para lograr un pH adecuado para su consumo.

Otro punto importante es mantener una temperatura adecuada, de modo que el producto pueda a llegar a deteriorarse rápidamente. Así una buena temperatura es entre 1 y 3°C en el momento del salado. Si aumenta la temperatura se producirá un deterioro del jamón, por el contrario si disminuye, habrá una gran dificultad para la entrada de nitrificantes, y por

supuesto de la sal (Arnau, 1991). Los jamones pueden ser estables en cuanto a la aparición de microorganismos, solamente con el uso de la sal, pero más aún si se le añaden los nitritos y nitratos (Leistner, 1885). En España se usan principalmente dos tipos de salado:

- Recubrimiento de sal sobre los jamones apilados.
- Uso de bombos de salado, en la cual se utiliza una cantidad fija de sal por kilogramo de jamón.

Para el reposo, los jamones son lavados para así eliminar la sal en exceso, y algunos conservantes que habían sido añadidos para un tratamiento superficial, de acuerdo con la BOE (9-3-1985). La función que se quiere obtener principalmente durante esta etapa es un reparto de sal por todo el jamón, en esta etapa además se debe de emplear en el producto una temperatura inferior a los 5°C (Poma, 1992). Se debe de tener un especial cuidado con la humedad superficial que aparece en el jamón, debido a que esto favorece el crecimiento acelerado de *Micrococcaceae* (Arnau, 1991). Tras el reposo, debemos de llevar a cabo el paso de secado-maduración, en este paso se consiguen pasos de deshidratación, y por tanto proteólisis y lipólisis que producen el aroma en el jamón. En el caso del jamón de cerdo ibérico, al aumentar la temperatura, se produce una reducción de la grasa, y da lugar a lo que llamamos el jamón sudado. La deshidratación del jamón debe de ser controlada, ya que si esta es muy lenta habrá tendencia a aparecer los primeros estadios de limo superficial, pero si por el contrario es más rápida, se produce un endurecimiento en el jamón que frena la deshidratación o abre grietas en el producto, que facilitaría la entrada de ácaros, que a su vez daría lugar a malos olores en el jamón.

3.3. Métodos de conservación de la carne

Para alargar la vida comercial de la carne y para almacenar los productos cárnicos y que se mantengan frescos, es necesario conservarlos adecuadamente. Para ello, se ha desarrollado varias tecnologías para la conservación de los alimentos, de modo que, los consumidores tengan una amplia selección de alimentos a la comprar.

Los compradores de carne, cada vez son más selectivos a la hora de comprar, debido a que hoy día somos más conscientes de la calidad que presentan los productos que compramos.

Estas tecnologías y métodos que se están aplicando a los alimentos deben de asegurar la preservación de ellos, para ello, deben de inactivar los microorganismos patógenos que aparezcan y además inhibir aquellos que alteran a los productos. Pero no solo se deben de encargar de estos factores, sino que además, deben de conservar los alimentos con todas sus propiedades y características tanto como sea posible.

Mucho antes de la existencia de la microbiología, los alimentos eran conservados por la acción de las bacterias lácticas. La conservación por la fermentación láctica producía en algunos alimentos cambios en la calidad y características de ellos (Hugas, 1993; Fields, 1996; Stiles, 1996).

3.3.1. Efecto del crecimiento de microorganismos en la carne

La carne puede transmitir a las personas que la consuman microorganismos que pueden causar intoxicación, de modo que se produzca una enfermedad alimentaria. Estos microorganismos pueden ser, *E.coli enterohemorrágico*, *Yersinia enterocolítica*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* y *Clostridium botulinum*. Aunque la carne también puede ser alterada por otros microorganismos, que se encargan de deteriorarla como *Pseudomonas spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Shewanella*, *Brochothrix thermophacta*, bacterias lácticas, mohos y levaduras (ICMSF, 2001).

Cuando estos microorganismos comienzan a alterar la carne fresca, se producen olores desagradables. Una vez llegados a este momento, se cree que los microorganismos utilizan la carne como sustrato de crecimiento, de modo que la carne comienza a presentar un pH elevado (Brown, 1982). Se producen malos olores que provienen de ésteres volátiles, alcoholes y compuestos sulfurados. En estos casos predominan

las *Pseudomonas* en la alteración de la carne refrigerada, por otro lado, *P. fragi* es la causante de producir los ésteres etílicos (Gill, 1982).

Cuando la carne se encuentra casi totalmente alterada, se observa un incremento de pH, que es producido por el amoniaco y las aminas (Forrest *et al.*, 1979; Gill, 1982).

En el envasado de la carne al vacío y en atmósfera modificada, puede modificar la carne. En el envasado al vacío, al existir la ausencia de oxígeno se limita el crecimiento de las *Pseudomonas*, pero esto da lugar al crecimiento de otros microorganismos Gram positivos como por ejemplo, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* y *Carnobacterium* (Rosset, 1982). Con el envasado al vacío se produce la prolongación de vida comercial de la carne, en esta no se observa un pH elevado. De modo que en este caso, *Shewanella putrefaciens*, que no suele crecer en un pH normal y *Enterobacteriaceae*, son capaces de producir sulfuro de hidrógeno, lo que da lugar a un olor desagradable (Rosset, 1982).

Por otro lado, en las atmósferas modificadas hay gran cantidad de CO₂ y O₂, mientras que el crecimiento de *Pseudomonas* está limitado por el CO₂, el O₂, a su vez mantiene el color rojo vivo de la carne debido a la mioglobina oxidada de la carne.

3.3.2. Método de conservación de refrigeración y congelación

De todos los métodos que existen actualmente, la refrigeración es el más utilizado en la industria cárnica. Este método de conservación tiene unas temperaturas comprendidas entre -2 y 5 °C. La conservación de la carne bajo estas condiciones de refrigeración, se realiza durante periodos cortos, debido a que los cambios alterantes continúan y la velocidad de alteración se acelera con el tiempo. Los factores que aparecen en la vida útil de la carne que se encuentra almacenada bajo refrigeración son:

- Las condiciones de temperatura.
- La humedad durante el almacenamiento.
- La carga microbiana.
- La presencia de envolturas protectoras o su ausencia.

- La especie del animal que estemos conservado.
- El tipo de producto que estemos almacenando.

Para llevar a cabo una gran vida útil del alimento almacenado refrigerado, se debe de optimizar todas las variables que se encuentran en esta técnica de conservación. Aunque esta técnica debe además de ser complementada con otras técnicas de conservación debido a que así se logrará un aumento de vida útil del alimento, además de garantizar la calidad sanitaria de la carne fresca.

Este método tiene la cualidad de que evita mayormente cambios deteriorativos, además de la alteración total, que en otros métodos de conservación con el tiempo aparecen, como es el caso de irradiación, utilización de agentes químicos, deshidratación, etc.

Por otro lado, encontramos la congelación como método de bioconservación, este método es excelente debido a que, determina menos cambios que pueden ser perjudiciales para las propiedades organolépticas de la carne, más que cualquier otro método. Durante la congelación, se conserva muy bien la mayor parte del valor nutritivo. Por lo que podemos decir que las cualidades de la carne congelada pueden ser muy parecidas a la de la carne cuando se encuentra fresca. La utilización de la irradiación cuando la carne se encuentra congelada, puede ser muy ventajosa después de eliminar el oxígeno (Farkas, 1998). En la congelación de productos cárnicos, se pueden dar casos de modificaciones de las características sensoriales y organolépticas, además de las físico-químicas, como oxidación, cambios de color, pérdida de humedad, etc. Todo esto se debe a la magnitud de los efectos que producen la materia prima y además las condiciones en la que se realice este método de conservación y posteriormente su descongelación (Carballo *et al.*, 2001).

Con respecto al jamón comercial se han llevado a cabo estudios los cuales han mostrado que el tratamiento de congelación y su posterior

descongelación de los perniles del cerdo, no afecta al color ni a sus características sensoriales (Motilva *et al.*, 1994; Bañón *et al.*, 1999).

3.3.3. Método de conservación de envasado al vacío

Este método de conservación de alimentos es el más utilizado comercialmente a día de hoy, modifica el ambiente interno del envase y es ampliamente utilizado en la industria cárnica.

En la carne al ser un alimento que puede ser alterado con facilidad y por tanto muy perecedero, este método de bioconservación se encarga de favorecer el mantenimiento de la frescura del producto durante bastante tiempo (Lundquist, 1994). Este método fue desarrollado para cubrir necesidades específicas, así es como empezó en la industria de los supermercados.

La creación de películas flexibles y el envasado al vacío para la carne, es uno de los mayores logros que se han conseguido en la tecnología de los alimentos. Hoy en día es el principal método de conservación de alimentos, tanto para el consumidor como para el distribuidor. También se han fabricado otro tipo de películas como son las de cloruro de polivinilo altamente plastificado (PVC). Este producto está diseñado específicamente para mantener de forma individual el producto (Lundquist, 1994).

3.3.3.1. Principios generales del método de conservación del envasado.

El sistema de envase al vacío proporciona la eliminación de O₂ del envase, de modo que evita que puedan crecer microorganismos tanto patógenos como alterantes en el producto, en este caso la carne. Aunque, por óptimas que sean las condiciones, no es posible eliminarlo en su totalidad. Normalmente, para este envasado se utilizan bolsas plásticas. El efecto de este método, es que cuando existen bajas concentraciones de aire, la oximioglobina no se encuentra presente en la superficie del músculo. Por lo que, cuando el músculo se deteriora depende de la oximioglobina de la carne que se está oxidando, dando lugar a la metamioglobina (Gill y McGinnis, 1995).

Otros beneficios de este método de envasado al vacío según Brody (1996) son:

- Evita que pierda peso el producto.
- Evita que los productos tengan más humedad o bien pierdan la que ya tienen.
- Evita contaminaciones.
- Evita el “quemado” (daño que se produce por la congelación).
- Establece un mejor manejo de los productos terminados.
- Es perfecto para el envasado y para el control de porciones.

Por otro lado, se puede decir que otro de los métodos que se utilizan hoy en día es el envasado en atmósfera controlada, que modifica la atmósfera gaseosa natural. Este método, básicamente, comprende a la tecnología que es aplicada para el almacenamiento que asegura una atmósfera independiente de las respiraciones del producto, entre otras (Brody, 1996). También existe la atmósfera modificada (EAM), que consiste en cambiar la atmósfera inicial del entorno del producto, permitiendo así que produzcan una variación del entorno gaseoso en el envase (Brody, 1996).

3.3.4. Método de conservación de envasado en atmósfera modificada

Esta tecnología se está aplicando a multitud de productos de la naturaleza, como pescados, lácteos, carne, etc. Tiene una gran importancia en alimentos como los derivados cárnicos. Este tipo de conservación es muy bueno para alimentos frescos y sobretodo, para aquellos que se encuentran mínimamente procesados, al igual que para platos preparados.

Como bien sabemos en el sector cárnico se ha implantado esta tecnología de envasado en atmósferas modificadas desde hace muchos, debido a que este sector de alimentación fue de los primeros en llevar a cabo este método de conservación. Por ejemplo se emplea para la elaboración de grandes trozos de carne que después se despiezan y vuelven a ser envasados para su consumo. Este método en gran parte sirve para

aumentar el tiempo de vida útil de la carne fresca y sus derivados, que llegan al consumidor en presentación con formatos más pequeños. A pesar de que estos productos cárnicos son estables cuando se encuentran en piezas enteras, una vez que estos son loncheados empiezan a aparecer el riesgo de alteración microbiana y físico-química:

a) Microbiana:

- Aparece el agriado: que se produce por un aumento del ácido.
- Hinchazón del paquete: que se debe al CO₂ y que se produce por efecto de bacterias ácido lácticas y levaduras.
- Viscosidad por transformación de sacarosa: Se lleva a cabo por la aparición de *Lactobacillus*.

b) Físico-química:

- Enranciamiento: se produce por oxidación y se debe al grado de saturación de las grasas.
- Aparición de tonos verdosos: es producido por radicales libres por oxidación.
- Secado.

3.3.4.1. Principios generales del envasado en atmósferas modificadas.

Esta técnica de conservación se lleva a cabo mediante un método de empaquetado que se encarga de suprimir el aire del interior del envase, el cual es sustituido por un gas que es específico de cada alimento, este se encarga de controlar las reacciones químicas y enzimáticas que se producen durante el almacenamiento del producto y durante su comercialización (Crespo *et al.*, 2006). Esta tecnología, implica ventajas:

- Mantiene las propiedades organolépticas.
- Ofrece envases más atractivos.
- Ralentiza el desarrollo de bacterias y hongos.
- Evita el enranciamiento del alimento.
- Prolonga la vida útil de los alimentos frescos.
- Minimiza el uso de conservantes y aditivos.

- Evita la mezcla de olores de alimentos.

3.3.5. Método de conservación de irradiación

Este método de bioconservación es uno de los más eficaces para la inactivación de patógenos contaminantes que pueden encontrarse en los productos cárnicos. En él se exponen a los productos, en este caso cárnicos, a irradiación ionizante, como por ejemplo, electrones de alta energía o someterlo a rayos gamma para lograr matar a patógenos presentes en el producto (Lee y Ahn, 2009). Este método es utilizado mayoritariamente en carnes de cerdo y cordero que son envasadas al vacío, debido a que al ser transportadas pierden su eficacia y vuelven a tener una corta vida útil.

Pero esta técnica además de conservar, también puede producir cambios en el aroma y olor de los alimentos conservados. Esta tecnología se realiza cuando la carne está en estado congelado, y también tras haber eliminado el oxígeno, puede ser un método de conservación muy ventajoso (Farkas, 1998).

La irradiación ofrece unas ventajas que otros métodos como en el caso de la inactivación térmica o el uso de algunos conservantes no nos proporciona:

- En este método se pueden evitar productos químicos que puedan ser tóxicos para el consumidor.
- No es una técnica residual.
- Es eficiente para inactivar especies patógenas.
- No tiene mucho gasto de energía.
- En el caso de la carne, esta puede ser tratada después del envasado final.
- Esta técnica puede combinarse con otros métodos (Kundu *et al.*, 2014).

En la actualidad, hay tres tipos de irradiación que son utilizadas en alimentos:

- Rayos gamma que son emitidos desde formas radioactivas del elemento cobalto-60 y cesio-137.
- Rayos X.
- Haz de electrones (Lee y Ahn, 2009).

3.3.6. Método de conservación de Altas Presiones Hidrostáticas

En nuestro estudio se va a utilizar el método de bioconservación de altas presiones hidrostáticas (APH). En este método el producto se encuentra previamente envasado, es colocado en contenedores de alta presión, donde por medio de bombas intensificadores y un medio presurizante, que normalmente se trata de agua purificada, se llega a someter el producto que ha sido introducido dentro de dicho contenedor a rangos de presión entre 100 y 800 MPa (Aymerich *et al.*, 2008).

3.3.6.1. Principios generales del tratamiento APH

Esta técnica consiste en una cámara de presurización, de un medio transmisor de presión, que normalmente es agua y un sistema de bombas que origina la presión (Fig. 6). El método de altas presiones hidrostáticas consta de lotes que a nivel comercial producen entre 250 kg/h a 1300 kg/h. Las cámaras de presión tienen una capacidad máxima de 300L, el producto puede depositarse en la cámara empacado o no empacado en los contenedores y una vez allí se pone en contacto con el fluido que se encuentra dentro de la cámara.

La presión se transmite por el fluido hacia la superficie del alimento que ha sido introducido, esta presión se transmite de manera uniforme e instantánea que se encuentra de acuerdo con el Principio Isostático. Cuando comienza el tratamiento se altera el equilibrio químico del alimento, esto produce cambios de acuerdo con el Principio Le Chatelier, además de la alteración de ese equilibrio químico, se produce un

desarrollo de reacciones como por ejemplo adición de doble enlaces, hidrólisis de monosacáridos, sustitución nucleofílica, modificación de estructuras biológicas y su configuración molecular.

A pesar de no ser un tratamiento térmico, la presurización produce un aumento de la temperatura, aunque depende también de las características del alimento. Cuando se trata de productos con alta humedad se produce normalmente un aumento de 3 a 4°C/100 MPa, pero sin embargo cuando se trata de alimentos con alto contenido de grasa puede llegar a alcanzar un valor de 9°C/100 MPa.

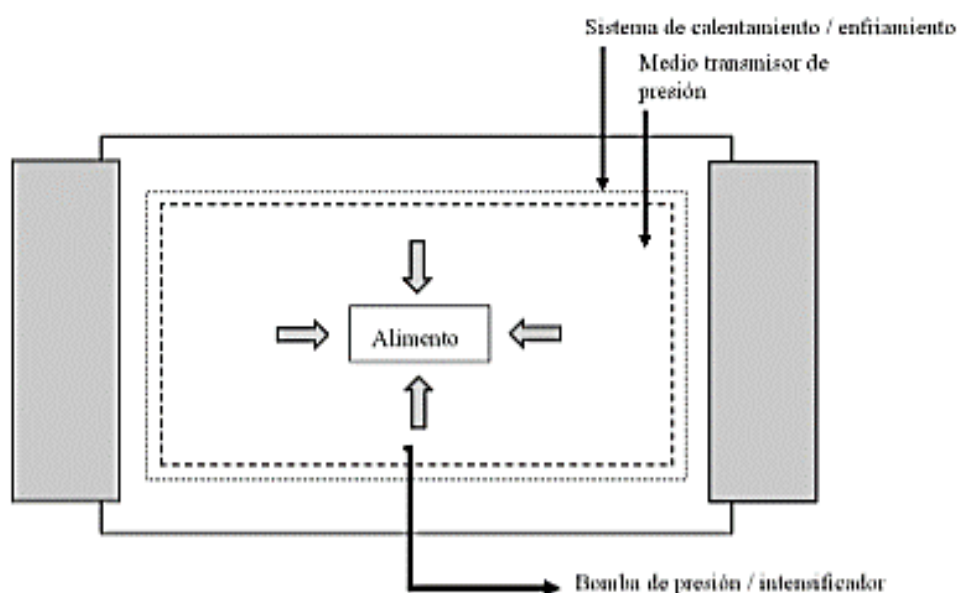


Figura 6. Diagrama del proceso de alta presión hidrostática (Adaptado de: Welti-Chanes *et al.*, 2015).

Esta tecnología mantiene las características nutricionales y sensoriales de los alimentos con efectos secundarios en frescura y calidad. Las altas presiones hidrostáticas pueden modificar las proteínas y macromoléculas de los alimentos que han sido tratados, esto se debe a la ruptura de puentes de hidrógenos, enlaces iónicos o interacciones hidrofóbicas. También esta técnica puede afectar a la actividad biológica debido a modificaciones que se pueden producir en el sitio alostérico. Además, la

APH puede afectar al mecanismo genético que se encarga de la transcripción de funciones celulares que pueden estar asociadas a la supervivencia y reproducción de microorganismos (Abedi *et al.*, 2014).

3.3.6.2. Inactivación de microorganismos patógenos

Este método permite como hemos comentado antes la inactivación de microorganismos patógenos presentes en nuestro caso en productos cárnicos y también inactiva a aquellos que puedan deteriorar el alimento (Buzrul, 2014), esto se debe a que al transmitir presión de forma constante, se logra obtener productos más homogéneos, es decir que tengan unas características más homogéneas. Se puede decir que esta técnica está sujeta a la ley de Pascal y de Le Chetelier, dando lugar a un proceso isostático (Chawla *et al.*, 2011).

Se ha observado que en el aumento de la presión, no hay mucha variación en la temperatura del producto, por lo que se trata de un método no térmico, ya que cada 100MPa, aumenta unos 3°C, dependiendo también de la composición del alimento (Rendueles *et al.*, 2011).

Además de la inactivación de microorganismos patógenos y de aquellos que deterioran los alimentos, también ayuda en la profilaxis de la calidad y las propiedades organolépticas que componen al producto, en este caso cárnico (Buzrul, 2014).

En la actualidad, se están comenzando a comercializar productos que han sido tratados con esta tecnología. Las presiones que se utilizan hoy en día en estos productos van de 100 a 600 MPa, y puede ser con o sin calor para inactivar así los microorganismos (Garriga y Aymerich, 2009). Sin embargo, se ha demostrado que unas presiones entre 400-600 MPa en un tiempo de 2 a 10 minutos, es suficiente para inactivar microorganismos que pueden producir enfermedades de transmisión de los alimentos (Simonin *et al.*, 2012). Por otro lado, como desventaja podemos decir que las esporas no son sensibles a estas presiones, por lo que sólo la presencia de calor podría inactivarlas, aunque también otra forma de

inactivarlas sería la adición de un tratamiento de lisozima o lactoperoxidasa (Peleg *et al.*, 2012).

La aplicación de Altas Presiones Hidrostáticas (APH), que ha sido utilizada en carnes y productos cárnicos, se ha focalizado en el efecto que produce sobre los microorganismos como método para mejorar la seguridad del producto final. Aunque este método de conservación también se está utilizando para la producción de nuevos productos cárnicos. Esta técnica para conservar los alimentos, se puede aplicar en alimentos envasados, para así prevenir una re-contaminación, y así prolongar su vida útil como alimento (Bajovic *et al.*, 2012). Con este tratamiento, se ha demostrado que la vida útil del jamón y otros productos similares, como por ejemplo el jamón curado y lomos de carne marinados, podría alargarse hasta los 120 días (Hugas *et al.*, 2002). Pero no todo es bueno, ya que esta técnica también tiene inconvenientes, como por ejemplo la modificación de coloración en productos cárnicos, que dan lugar a cambios en la texturas, color, brillos, salinidad y olor de dichos productos (Clariana *et al.*, 2011).

La modificación que produce este método de conservación, con efecto antimicrobiano se debe a que producen cambios en la pared celular y la membrana de las células de los microorganismos, las contraen y separan de la pared celular y producen un alargamiento celular (Wang *et al.*, 2013). También producen una desnaturalización de las proteínas que es causada por la presión que ejerce dicha tecnología, esta presión desestabiliza las interacciones no covalentes en la estructura terciaria, de modo que el pequeño grado de despliegue que expone regiones hidrófobas de estas proteínas sería la causa más frecuente de agregación de estas (Garriga y Aymerich, 2009). Pero, por otro lado, esta técnica, no afecta los compuestos del alimento que proporcionan vitaminas, minerales o compuestos que se encargan de producir el aroma del alimento (Huang *et al.*, 2013).

Comúnmente, los niveles de inactivación de microorganismos en los alimentos que han sido tratados por APH, dependen a su vez del tipo de bacteria que haya contaminado al alimento, ya que se puede decir que las bacterias Gram-negativas son más sensibles a la presión que las bacterias Gram-positivas. También estos niveles de inactivación se pueden deber a niveles de presión, tiempo, fase de crecimiento, temperatura, pH, composición del alimentos o actividad acuosa (Hwang y Fan, 2015).

3.3.6.3. Aplicaciones de APH en alimentos

La técnica de APH se ha ido estableciendo para el procesamiento de alimentos como por ejemplo los productos cárnicos, frutas, vegetales, bebidas y jugos. En las frutas y verduras se ha logrado inactivar flora microbiana que se encuentra presente y además inhibe algunas enzimas presentes en estos alimentos, como es el caso de la pectinmetilesterasa.

Por otro lado, en productos lácteos, este tratamiento favorece la maduración de los quesos, además interviene en la fermentación del yogurt ya sea retardándola o acelerándola, por lo que también garantiza la vida de la cepa probiótica de estos alimentos. También han sido tratados alimentos como almejas, mejillones, langostinos, entre otros, proporcionando así una comercialización de productos de alta calidad y microbiológicamente seguros (Hyperbaric, 2015).

Microorganismo	Sustrato	Condiciones de tratamiento	Inactivación (log ₁₀ unidades de reducción)	Referencias
Esporas de <i>C. botulinum</i> tipo E (Alaska)	Amortiguador de fosfatos (0.067 M, pH7)	827 MPa/50°C/ 5min	5	Reddy y col. (1999)
Esporas de <i>C. sporogenes</i>	Pechuga de pollo	680 MPa/80°C/ 20 min	2	Crawford y col. (1996)
<i>B. stearothermophilus</i>	Agua	600 MPa/5°C/ 70 min x 6 ciclos	5	Hayakawa y col. (1994)
<i>C. sporogenes</i>	Emulsión de carne	621MPa/98°C/5min	>5 (<i>C. sporogenes</i>)	Wilson y Baker (2001)
<i>B. subtilis</i>			>9 (<i>B. subtilis</i>)	
Esporas de <i>B. stearothermophilus</i>			>10 (<i>B. stearothermophilus</i>)	
HIV-1	Medio de cultivo	550 MPa/25°C/ 10 min	Infectividad reducida por >4 log ₁₀ 50% de los cultivos con una dosis infecciosa de 7 log ₁₀ fueron inactivados completamente	Otake y col. (1997)
Calicivirus felino	Cultivo de tejido	275 MPa/21°C/ 5 min	>6 log ₁₀ reducción en unidades formadoras de plaquetas	Kingsley y col. (2002)
Hepatitis A	Cultivo de tejido	450 MPa/21°C/ 5 min	>6 log ₁₀ reducción en unidades formadoras de plaquetas	Kingsley y col. (2002)
<i>Salmonella Senftenberg</i> 775W	Alimento	340 MPa/23°C/ 10 min	< 2	Metrick, Hoover y Farkas (1989)
<i>Escherichia coli</i> O157: H7 NCTC 12079	UHT leche Y Carne de ave	600 MPa/20°C/ 15 min	< 2 Y 3	Patterson y col. (1995)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Pudin de puerco	300 MPa/25°C/ 10 min	6	Shigehisa y col. (1991)
<i>Staphylococcus aureus</i>	UTH leche	600 MPa/20°C/ 15 min	2	Patterson y col. (1995)
	Carne de ave		3	
	UTH leche		<1	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Carne de ave	375 MPa/20°C/ 15 min	2	Patterson y col. (1995)
<i>Listeria innocua</i>	Jamón cocido cerdo	550MPa/40°C/4min	4	Resultados inéditos
		550 MPa/55°C/10min	3.1	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> O3:K6	Ostras	300 MPa/10°C/ 3min	5	Cook (2003)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Pudin de puerco	300 MPa/20°C/ 10 min	2	Shigehisa y col. (1991)

Figura 7. Sensibilidad de patógenos frente al tratamiento APH (Adaptada de Patterson, 2005; Norton y Sun, 2008).

A nivel mundial destaca el tratamiento de productos cárnicos, esto puede deberse a que estos alimentos son los que más se adaptan a este tipo de tecnología, y a los que más beneficios le producen.

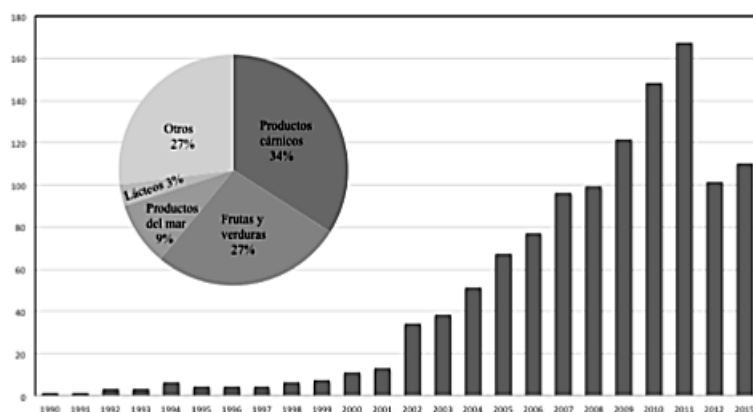


Figura 8. Evolución del número de tratamientos de APH que procesan alimentos a nivel mundial. (Fuente: Hiperbaric, 2015).

3.3.6.4. Aplicaciones de APH en productos cárnicos

En productos cárnicos se ha utilizado y estudiado el efecto que producen las altas presiones hidrostáticas, con el fin de mejorar la seguridad microbiológica de los alimentos. Con esta tecnología se ha logrado inhibir microorganismos que pueden deteriorar el alimento, como por ejemplo, las *Enterobacterias* y las BAL, también microorganismos psicrófilos, como las *Pseudomonas* y algunos patógenos como son el caso de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes*. Estos microorganismos pueden o bien alterar el alimento o causar problemas graves en la salud de los consumidores de estos productos cárnicos. Este tratamiento provoca sobre los microorganismos alteraciones de permeabilidad, dificultad para mantener el pH intracelular y sistema de respuesta osmótica entre otras (Patterson, 2005).

Tipo de producto	Tratamiento (MPa /°C /min)	Efecto del uso de APH	Referencia
Jugo de naranja	500/35/5	Mejora la vida media, consistencia, y disminuye la acidez	Polydera, Staforos y Taoukis (2003)
Salchichas	500/65/5 500/65/15	Mejora la textura y el sabor, aumenta la jugosidad, disminuye la firmeza, mantiene el color.	Mor-Mor y Yuste (2003)
Ejotes	500/25/1 1000/105/1.3	Retiene la firmeza y prolonga la vida de anaquel, se detecta actividad residual de la peroxidasa.	Krebbers y col. (2003)
Carne de res	150/60/30	Estimula la proteólisis y cambios ultra-estructurales, disminuye la jugosidad, se observa rigidez en la carne.	Bertram y col. (2004)
Salmón	200/20/10	Color brillante, incrementa firmeza y prolonga la vida de anaquel.	Lakshmanan, Piggott y Paterson (2003)
Queso	400/20/20	Mayor rendimiento, contenido microbiano reducido, no se observa pérdida de color.	Sandra, Stanford y Meunier (2004)

Figura 9. Características de algunos alimentos que han sido tratados con APH (Adaptada de Norton y Sun, 2008)

Normalmente, para estudiar la respuesta microbiana de un microorganismo, se produce una inoculación en el alimento antes de someterlo al tratamiento de APH, estos microorganismos suelen ser más

resistentes a la presión, que los que han sido desarrollados bajo la solución amortiguadora (Tassou *et al.*, 2007). Muchos productos cárnicos como jamón curado, jamón cocido, productos fermentados y frescos han sido tratados con esta tecnología para mejorar su seguridad y su vida de anaquel (Norton y Sun, 2008). Algunos estudios señalan un efecto inhibitorio de algunos ingredientes como por ejemplo, ácido linoleico y oleico, hongos, levaduras y bacterias anaerobias en muestras de salchichón español que ha sido tratado con la técnica de APH a 500 MPa/ 5min/ 6°C y luego ha sido refrigerado a 6°C (Rubio *et al.*, 2007).

Otro factor similar al que produce la presión es el pH, ya que este produce inhibición de microorganismos y además contribuye a la recuperación celular en cárnicos tras ser refrigerados. Aunque este efecto, favorece la supervivencia de *Leuconostoc mesenteroides* y *Weissella viridescens*, que ocasionan el deterioro en productos cárnicos (Delgado-Adamez *et al.*, 2013).

Las tácticas para aumentar la letalidad de los microorganismos presentes en productos cárnicos que han sido pasteurizados con APH, involucran normalmente la temperatura de proceso (Tassou *et al.*, 2008). A temperaturas entre 20 y 30 °C, se ha observado que algunos microorganismos muestran más resistencia. Se sabe que la técnica de APH a temperaturas entre 5 y 10 °C, produce cambios en el color rojo del músculo y además aumenta la luminosidad y da un aspecto parecido al del producto cocido (Carballo y Jiménez-Colmenero, 2002).

Según Aymerich y Garriga (2009), se ha utilizado algunas presiones entre 50-600 MPa para poder alcanzar beneficios en la calidad del producto cárnico al que se le ha sometido a ese tratamiento. La presión de esta tecnología causa a su vez desnaturalización de proteínas, que depende de la fuente del músculo y otros parámetros como el pH, la concentración de proteínas, la temperatura y la fuerza iónica (Campus, 2010). En productos cárnicos españoles como es el caso del jamón, la presión a 600MPa durante 6 min, conserva a los microorganismos vivos en un nivel

que mantiene la frescura durante la vida útil consumible durante 120 días (Campus, 2010).

4. OBJETIVOS

Objetivo general: Realizar una revisión de las técnicas de conservación alimentaria del jamón serrano.

1. Descripción de las técnicas de conservación que se usan en jamón serrano.
2. Comparación de los resultados microbiológicos obtenidos según las técnicas.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Refrigeración y congelación

En este estudio se utilizó 24 perniles procedentes de cerdos ibéricos de cebo. Estos jamones a su vez fueron divididos en dos grupos, cada uno de ellos había recibido un tipo de tratamiento antes de la maduración.

- C: fueron congelados a una temperatura de -20°C durante meses. El proceso de descongelación se efectuó a 3-4°C durante 4 días.
- R: se obtuvo dos días antes de la congelación de los jamones C, los que se mantuvieron a 4°C durante 36-48 horas hasta que comenzaron a madurar.

Trabajó con 12 jamones de cada lote, de estos 12, se utilizaron 6 para realizar un análisis de la materia prima, y los otros 6 fueron procesados para la obtención de jamones ibéricos curados. Para poder obtener las muestras de cada jamón, se disecó el muslo de los jamones.

Por un lado, se analizó el contenido de humedad de las muestras (AOAC 2000) y se usaron medidas de color (L^* , a^* y b^*) y una textura de instrumento (elasticidad, cohesividad, dureza de corte, masticabilidad, dureza y adhesividad).

Para llevar a cabo la extracción y la cuantificación de los lípidos totales se realizó la técnica descrita por Pérez-Palacios *et al.*, (2009). Una vez llevada a cabo la extracción de fase sólida (Ruiz *et al.*, 2004), los lípidos totales fueron fraccionados en lípidos neutros, lípidos polares y ácidos grasos libres. Tras esto, los ácidos grasos de las fracciones lipídicas fueron metilados mediante transesterificación ácida (Sandler y Karo, 1992). Finalmente, por cromatografía gaseosa con detector de ionización de llama fueron analizadas las muestras.

Por otro lado, se usó un método basado en la determinación de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico para medir la oxidación lipídica (Salih *et al.*, 1978).

También se analizó mediante cromatografía líquida de alta resolución y detector UV, la composición de aminoácidos dipéptidos (Flores *et al.*, 1997).

5.2. Envasado al vacío.

En el caso del método de conservación de envasado al vacío, se utilizó jamón, pero esta vez fue jamón cocido. Para averiguar el funcionamiento del envasado al vacío se llevó a cabo, un estudio sobre el crecimiento de bacterias ácido lácticas, la alteración del producto y la calidad fisicoquímica una vez que se encuentran envasados al vacío.

Para este estudio, se realizó un muestreo en el cual, se obtuvieron seis marcas de JCLEV de cerdo, que fueron comprados en diferentes supermercados de la ciudad de Medellín. Estos supermercados mantenían los productos en una temperatura entre 4 y 2°C durante 45 días. Las características de la marca, ingredientes y formulación no fueron concluyentes para la selección de los JCLEV. En obtención de jamones, se utilizó como criterio que fueran jamones de la categoría estándar (NTC-1325 de 2008), y que además tuvieran una fecha de caducidad parecida entre 25 y 4 días.

En cuanto al criterio de muestreo, se obtuvieron en dos tiempos:

- 1) Tras adquirir los jamones.
- 2) Tras el almacenamiento de 45 días, o antes si los JCLEV presentaran deterioro sensorial visible (abombamiento del envase, pérdida de vacío, limo superficial, cambios de color, etc.).

En los diferentes tiempos de muestreo se llevaron a cabo los requisitos microbiológicos que son empleados para productos cárnicos procesados y cocidos (NTC 1325 de 2008).

Se realizó tanto un recuento de microorganismos, como un recuento de bacterias ácido-lácticas.

En el diseño experimental empleado, se llevó a cabo dos tiempos de almacenamiento:

- t_0 = 25 días antes de FV.
- t_1 = 45 días de almacenamiento (15 días después de FV).

Se utilizaron dos factores fijos:

- El primero, se trató de un tipo marca, de seis niveles.
- El último, se trató del factor de procedencia de las muestras, en tre niveles:
 - P_0 = Tienda de barrio.
 - P_1 = Mini mercados.
 - P_2 = Supermercados.

A cada uno de los tiempos se le hicieron 18 muestras de JCLEV de marcas comerciales, con condiciones similares a la de este producto. Las mediciones de las variables utilizadas, fueron realizadas por triplicado y además los resultados fueron analizados por un análisis de varianza ANOVA utilizando el método LSD, para comparaciones múltiples, con un nivel de significación del 95%. El ANOVA fue realizado con el paquete estadístico STATGRAPHICS plus, versión Centurión XVI.

Además se evaluaron los parámetros físico-químicos, como son el caso de los parámetros de acidez, humedad, pH y actividad del agua, incluso análisis de cloruros en tres réplicas para cada muestra de JCLEV.

5.3. Envasado en atmósferas modificadas.

En este estudio se seleccionaron 15 cerdos puros ibéricos. Los cerdos fueron alimentados con pienso comercial 90 ± 5 kg, tras el destete, y mantenidos en la dehesa hasta la última fase de engorde, durante 70-80 días. Durante esa etapa los animales se alimentaron a base de los recursos naturales de la dehesa (pastos y bellotas). Los animales se sacrificaron con un peso homogéneo 150 ± 10 kg. Tras el sacrificio, se cogió una porción del músculo, desde la última vértebra lumbar hasta la primera torácica. Se fileteó en 5 partes y se le asignaron los tiempos: control, 6, 12, 18 y 24 días. Las

determinaciones del lote “control” se realizaron a las 24h post-mortem y el resto se envasaron en atmósfera con una mezcla de gases de 70% O₂ y CO₂ y a su vez almacenados a 4°C en refrigeración para su posterior análisis. Se utilizó una envasadora de barquetas ULMA® Smart-300 y bandejas de polipropileno con permeabilidad al oxígeno.

Para la determinación de α y γ -tocoferol se utilizó el método de Liu *et al.*, (1996), además de modificaciones propuestas por Cayuela *et al.*, (2003). Se obtuvo un extracto por saponificación y fue analizado por HPLC Agilent Technologies®. La fase móvil de la muestra estuvo constituida por una mezcla entre terahidrofutano HPLC y iso-octano HPLC. La determinación de ello se llevó a cabo por fluorescencia. Tras esto, en la identificación y cuantificación, se usó el patrón de externo de α -tocoferol y γ -tocoferol. Y en cuanto a sus valores se expresaron como μg tocoferol/g músculo. En la oxidación lipídica (TBA-RS) se midió por el método de Salih *et al.*, (1987). Para las determinaciones, se realizaron espectrofotometría a 532nm en un espectrofotómetro de la marca Agilent Technologies® CARY 60. En las cuales los valores se representaron como μg de malonaldehído/g de músculo. La oxidación de sus proteínas se evaluó por medición de grupos carbonilo que se formaron durante la incubación con 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH), con un método descrito por Oliver *et al.*, (1987).

Por otro lado, las determinaciones se realizaron mediante espectrofotometría, en las cual se usó el espectrofotómetro Agilent Technologies® CARY 60. La concentración de las proteínas se midió a 280nm con patrón externo albúmina de suero bovino y por otro lado, los carbonilos se midieron a 370nm. Los valores finales obtenidos se expresaron como nmol carbonilos/mg de proteína.

Por último, los resultados obtenidos fueron evaluados a través de un programa llamado SPSS 15.0 (SPSS, 2005) en el cual se utilizó la varianza ANOVA y el test tukey en un modelo en el cual se tuvo como factor fijo el tiempo de maduración.

5.4. Irradiación

En este caso, hemos elegido un estudio de un producto cárnico en el cual se estudia la irradiación de carne molida de res destinada para la elaboración de hamburguesas.

Las muestras que se obtuvieron para este estudio, fueron transportadas al laboratorio en recipientes con hielo a temperatura de 5°C. Las muestras fueron sometidas por medio de placas Petrifilms 3M a un proceso de cuantificación, después de haber realizado una homogeneización y varias diluciones en una cámara de flujo laminar y ser incubadas en una estufa a 35°C y cuantificadas finalmente tras 48 horas en un contador de colonias.

Para el estudio se seleccionó carne molida res de varios supermercados y mataderos. Se escogieron 4 lugares y se consideró el precio, calidad, ubicación y volúmenes de venta. Todo el estudio fue realizado bajo condiciones de asepsia de materiales, soluciones, instrumentos, etc.

Se tomaron muestras de 2,5kg que fueron divididas en 0,5kg tras ser homogeneizadas y se colocaron en recipientes de plástico, y fueron tratadas con diferentes dosis. Este proceso se llevó a cabo durante 10 repeticiones, una por semanas, es decir, durante 10 semanas.

Para el tratamiento de la muestra, se realizaron análisis en el Departamento de Ciencias de Alimentos y Biotecnología (DECAB). En él, se realizaon los recuentos de coliformes que fueron efectuados según el Manual ICMSF (1996). Para ello se utilizó el caldo Lauril Sulfato, caldo verde brillante Bilis-Lactosa y caldo EC. Para el recuento, se dejaron las placas durante 24 horas tras la siembra. Tras la irradiación se utilizó un método establecido por la norma INEM 756 y el método AOAC 991.14, para realizar el análisis microbiológico de cárnicos y productos cárnicos.

Para determinar la dosis óptima, la carne fue irradiada a:

- 0 Gy.
- 500 Gy.

- 750 Gy.
- 1000 Gy.
- 1250 Gy.
- 1500 Gy.

Las muestras se sometieron a controles microbiológicos para la cuantificación de *Escherichia coli* y coliformes totales. Los resultados, se compararon con la carga microbiana máximas recomendadas por la INEM y ICMSF. Se determinó en base a dos criterios:

- 1) Para el recuento total de *E.coli*: El número de bacterias mínimo debe ser 100 ufc/g.
- 2) Para el recuento de los coliformes totales: debe de haber una presencia menor de 100 ufc/g.

En cuanto a la prueba sensorial, se realizó un estudio con 15 personas, las muestras con un peso de 25g fueron envueltas con papel de aluminio y entregadas a su vez con una temperatura de 50°C. Estas fueron además previamente cocinadas durante 30 minutos. Para el estudio se empleó el método de comparación múltiple, en el cual se entregan 3 muestras codificadas a cada persona, para su comparación una de ellas presenta una referencia y las otras dos llevaban el tratamiento de irradiación a 1500 Gy.

5.5. Altas presiones hidrostáticas

5.5.1. Método de altas presiones hidrostáticas sobre color y estabilidad oxidativa del jamón

En este método se realizó un estudio de cuatro jamones ibéricos procesados durante 18 meses, los jamones fueron obtenidos de Encinar del Cabezón (Cáceres). Los jamones se cortaron en lonchas de 10mm de grosor.

Para llevar a cabo el tratamiento con altas presiones hidrostáticas, se dividieron las lonchas (n=2) en dos grupos:

- Uno de ellos fue tratado con altas presiones de 400 MPa durante 15 minutos (Lote 400).
- Otro no se presurizó (Lote control).

Para la presurización se realizó un envasado al vacío cada una de las lonchas, que fueron envasadas individualmente en bolsas de 30 µm PA/100 µm PE y colocadas en un cilindro de presurización a 20°C. Estas se introdujeron en un equipo discontinuo de presurización, que llevaba aceite de ricino el cual fue utilizado como fluido transmisor de la presión. Por otro lado, las lonchas de ambos lotes fueron envasadas por separado en bolsas de material laminado. Estas bolsas presentaban una permeabilidad a 23°C. Para que las bolsas llevaran introducido una atmósfera protectora, se utilizó un equipo de envasado VacuMIT Maschinenbau (Duggendorf, Alemania). En todos los envases se obtuvo un producto/gas 1:1.

Cada uno de los dos tipos de lotes envasados se colocó en refrigeración a 5°C durante 39 días. En cuanto a las fuentes de luz, consistía en tubos fluorescentes, la intensidad se ajustó a 1000 lux.

Por otro lado, para observar el color de la superficie de las lonchas se realizó de la parte del músculo *Vastus lateralis*, en el cual se utilizó como zona para obtener las lonchas de los jamones. Para medir el color se utilizó un colorímetro Minolta CR-300 equipado con procesador de datos DP-301. Se midió por triplicado. Las mediciones se llevaron a cabo por un material transparente de envasado, y se realizó tres veces al día cada 2 horas durante las primeras 48 horas y cada dos días hasta el final del tiempo de almacenamiento.

Se realizaron análisis químicos, en los cuales se tomaron muestras (n=3) de la zona del jamón donde se había cogido la muestra para el análisis transcurridas 12 horas, 18 días y 39 días de almacenamiento, y tras esto se llevó a cabo los distintos análisis:

- Se determinó la concentración de nitrosilmioglobina por un método descrito por Homser, (1956).
- La estabilidad oxidativa se llevó a cabo mediante la medida del índice de TBA mediante el método descrito por Sørensen & Jørgensen, (1996).
- La humedad de las muestras fue determinada por el protocolo ISO/1442.

Por último, se realizó unos análisis estadísticos en los cuales se estudió el efecto de la alta presión sobre cada uno de los parámetros que habían sido estudiados. Se analizó mediante un análisis de la varianza de una vía por el procedimiento GLM de SPSS (SPSS 10.1, 1999). También se realizó un estudio mediante el coeficiente de Pearson entre variables, este también fue llevado a cabo por el procedimiento GLM de SPSS (SPSS 10.1, 1999).

5.5.2. Método de altas presiones hidrostáticas en la composición de ácidos grasos en jamón

En este método se ha realizado un tratamiento a jamones mediante altas presiones hidrostáticas. Sometieron lonchas de jamón curado que fueron anteriormente envasadas al vacío, a una presión de 600 MPa, durante 10 minutos y además a una temperatura de 15°C. También se envasaron del mismo modo los controles, pero estos no fueron sometidos al tratamiento. Tras ser tratadas las muestras, fueron almacenadas a -20°C durante un mes, hasta su análisis.

Para el análisis, se tomaron 50g de lonchas que fueron analizadas por el método de García Regueiro *et al.*, 1994. Con este método se determinó la composición de los ácidos grasos totales y también de los ácidos grasos libres en mg/100g de muestra. Los ácidos grasos de la muestra fueron separados a través de cromatografía de gases previa formación de los ésteres metílicos con columna BPX-70. La detección se hizo con FID.

5.5.3. Método de altas presiones hidrostáticas para la minimización de riesgos asociados con *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* en embutido

Para la realización de esta técnica se inocularon con un cóctel de cepas diversas de *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes* a varios tipos de embutidos pequeños. Estos embutidos que fueron fabricados anteriormente, tuvieron un proceso de maduración durante 28 días, a 12°C y una humedad de 80%. Se realizaron dos ensayos:

- Aplicación tratamiento APH (300MPa, 17°C durante 10 minutos), al inicio de proceso, después de embutir.
- Aplicación APH (400 MPa, 17°C durante 10 minutos) al final del proceso, en los embutidos madurados.

Se tomaron muestras por triplicado al inicio, durante y al final del proceso de maduración. Se evaluó el color y el pH. La evolución microbiana se realizó por siembra en medio selectivo para los patógenos. Finalmente, se realizó el recuento de las bacterias lácticas (agar MRS, 30°C, 72h) en los tiempos de muestreo de los microorganismos patógenos inoculados, en *Salmonella* (agar BGA, 37°C, 48h) y en *Listeria monocytogenes* (agar PALCAM, 30°C, 72h).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Refrigeración y congelación

En cuanto a los resultados podemos observar que el método de congelación en este caso, en los perniles ibéricos que fueron seleccionados provoca un cambio en su humedad, parámetros de color y en los lípidos totales de la materia prima que se muestra en la tabla 1.

En esta tabla podemos observar diferentes parámetros en cuanto al color instrumental, cada uno de ellos lleva a cabo una medida de color, en el caso de a^* y L^* , están relacionados con la pérdida de agua.

	R	C	p
Humedad (%)	73,25 ± 1,45	71,23 ± 2,28	0,028
Lípidos totales (%)	15,11 ± 2,23	16,12 ± 1,88	0,654
Color instrumental			
Cie L*	43,85 ± 2,15	43,60 ± 3,25	0,894
Cie a*	14,46 ± 2,72	19,07 ± 1,21	0,009
Cie b*	2,46 ± 0,78	3,37 ± 0,46	0,082
Chroma	14,69 ± 2,78	19,50 ± 1,00	0,007
Hue	10,28 ± 1,40	9,78 ± 1,17	0,605

Tabla 1. Humedad, lípidos totales y medidas de color instrumental de los jamones ibéricos refrigerados y congelados en materia prima. (Adaptada de Pérez-Palacios *et al.*, 2010)

Los perniles R tenían una humedad más elevada que en los C, como se puede observar en la tabla 1. Esto podría ser debido a las pérdidas de agua que se dieron al descongelarse (Jalang'o *et al.*, 1987). En el caso de los jamones C, presentaron un 0,97% de pérdidas de peso tras la descongelación.

Por otro lado, en las medidas de color instrumental se observaron algunas diferencias entre los datos obtenidos de los jamones R y C. En este caso, los perniles C mostraron valores más altos de a^* y Chroma que los perniles R, esto puede estar relacionado con la pérdida de agua según Arnau *et al.*, 2003.

Por lo que las diferencias en el color puede ser debidas a las diferencias de humedad producidas entre los jamones, siendo menor en los perniles C.

Además la pérdida de agua de los perniles C durante la congelación-descongelación supondría una mayor concentración de los pigmentos, lo que estaría relacionado con una carne más roja y más fresca. Estos resultados concuerdan con los realizados por Sakata, *et al.*, 1995.

La congelación-descongelación también afectó a los parámetros de textura instrumental de la materia fresca (tabla 2). Donde hubo una dureza mayor en los jamones fresco C que en los R. En el análisis del perfil de textura, los perniles R obtuvieron valores más altos en la dureza, elasticidad y masticabilidad. La media de dureza podría explicarse como turgencia. Estas diferencias, pueden estar relacionadas con el menor porcentaje de humedad en los perniles C que en los R. Por lo que se deduce que a mayor humedad existe una mayor dureza al corte. Se puede decir que en el caso de los perniles C su baja dureza se puede deber a la ruptura de miofibrillas durante la congelación.

	R	C	p
WBSF (N)	13,58 ± 1,331	15,05 ± 2,332	0,037
Perfil de textura			
Dureza (N)	22,73 ± 0,905	11,77 ± 1,114	<0,001
Adhesividad (N s)	0,30 ± 0,016	0,34 ± 0,015	0,008
Elasticidad	0,55 ± 0,051	0,45 ± 0,014	0,005
Cohesividad	0,04 ± 0,014	0,04 ± 0,162	0,591
Masticabilidad (N)	4,05 ± 0,376	1,86 ± 0,135	<0,001

Tabla 2. Dureza al corte y perfil de textura de los jamones ibéricos refrigerados y congelados-descongelados en materia prima. (Adaptada de Pérez-Palacios *et al.*, 2010).

En el caso de la tabla 3, se sumaron los sumatorios de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de tres fracciones lipídicas de los jamones ibéricos R y C. Tras el estudio realizado para los ácidos grasos, se observó que la congelación-descongelación generó cambios en la composición de los ácidos grasos libres y de los lípidos polares, sin embargo en los ácidos grasos de los lípidos neutros no se dieron cambios. En los perniles C, hubo un aumento en los niveles de ácidos grasos monoinsaturados que en los perniles R, sin embargo si tenemos en cuenta la

fracción de los lípidos polares fueron más bajos en los jamones C. Esto podría indicar una posible existencia de lipólisis durante la congelación-descongelación. También se observó que en los perniles C, hubo una mayor oxidación que en los R.

		R	C	P
Lípidos neutros	AGS	136,91 ± 18,52	122,51 ± 13,03	0,239
	AGMI	276,23 ± 4,72	273,13 ± 31,38	0,875
	AGPI	26,54 ± 1,03	24,47 ± 4,74	0,498
Ácidos grasos libres	AGS	10,47 ± 0,90	14,20 ± 4,90	0,132
	AGMI	8,32 ± 0,30	11,21 ± 2,55	0,041
	AGPI	6,23 ± 0,80	10,85 ± 6,49	0,153
Lípidos polares	AGS	20,96 ± 1,34	15,41 ± 3,83	0,034
	AGMI	18,05 ± 0,29	14,25 ± 2,49	0,023
	AGPI	29,72 ± 3,00	20,13 ± 6,54	0,037

Tabla 3. Contenido de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados en lípidos neutros, ácidos grasos libres y lípidos polares en jamones ibéricos refrigerados (R) y congelados-descongelados (C) en materia prima. (Adaptada de Pérez-Palacios *et al.*, 2010).

Para la composición lipídica, se ha analizado el contenido de las diferentes clases de fosfolípidos en jamón ibérico en materia prima. En este estudio se identificaron cuatro tipos de fosfolípidos, se han colocado por orden de abundancia: fosfatidicolina (PC), fosfatidietanolamina (PE), fosfatidilserina (PS) y fosfatidinositol (PI).

En la figura 10, se puede apreciar, que las barras de color azul, representa a los perniles C y las barras de color rojo, representa a los jamones R. En ella podemos observar como afectó la congelación-descongelación en la materia prima, en la cual los jamones C presentan una menor cantidad de estos fosfolípidos, que sin embargo en el caso de los perniles R tienen una mayor cantidad. Esto puede deberse a la producción de una hidrólisis en los fosfolípidos durante la congelación-descongelación de los jamones.

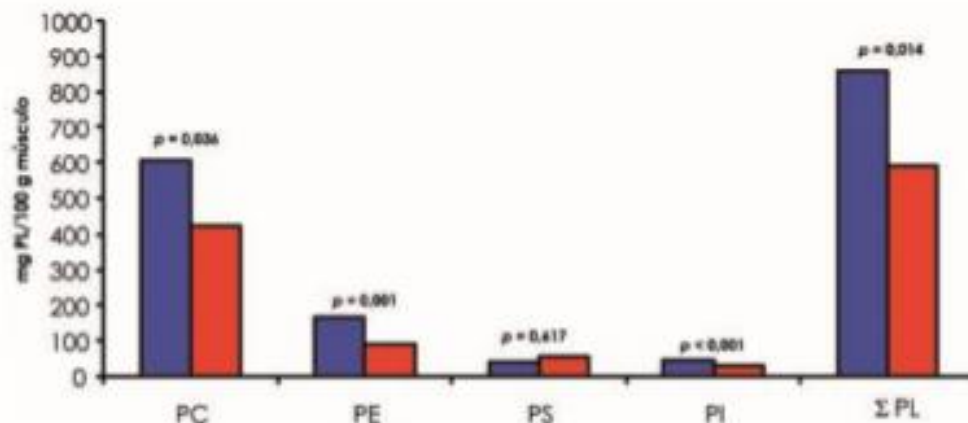


Figura 10. Contenido de las distintas clases de fosfolípidos en los perniles ibéricos refrigerados y congelados-descongelados en materia prima. (Adaptada de Pérez-Palacios *et al.*, 2010).

En cuanto a la actividad proteolítica, sus parámetros en la figura 10 muestra contenido en nitrógeno no proteico, nitrógeno aminoacídico y nitrógeno peptídico de los jamones R y C. En este caso se pudo observar que la congelación-descongelación no generó cambios sobre las fracciones nitrogenadas.

6.2. Envasado al vacío

Este estudio realizó recuentos microbiológicos. En el primer tiempo de muestreo que fue realizado 25 días antes de la fecha de vencimiento, no se observaron alteraciones sensoriales, pero sin embargo 15 días después de la fecha de vencimiento, se observaron en todas las muestras, pérdida de vacío, líquido dentro del empaque y cambio de color. Estas alteraciones habían aparecido relacionados con los recuentos de bacterias ácido lácticas (marcas M1, M2 y M3). En la tabla 4, se observan los resultados de la calidad del primer muestreo de jamones cocidos lonchados empacados al vacío.

TIPO DE PRODUCTO		RECuentos Microbiológicos (log ₁₀) PARA PRODUCTOS CÁRNICOS PROCESADOS COCIDOS – NTC 1325 2008							
	Marca	Aerobios Mesófilos	Coliformes totales	S. aureus	ECSR *	Salmonella	Listeria	E coli	BAL
PROCEDENCIA	Supermercado	M1	5,677± (0,172) ^{ab}	3,041± (0,0) ^d	2,1	0	Ausente	Ausente	10 (0,27) ^a
		M2	5,4815± (0,112) ^{af}	0,0± (0,0) ^a	0	0	Ausente	Ausente	0 (0,06) ^d
		M3	6,094± (0,164) ^{an}	1,791± (0,5273) ^e	0	0	Ausente	Ausente	0 (0,03) ^f
		M4	0,0± (0,0) ^a	0,0± (0,0) ^a	0	0	Ausente	Ausente	0 0 ^a
		M5	3,260± (0,059) ^{ad}	0,0± (0,0) ^a	0	0	Ausente	Ausente	0 0 ^a
		M6	3,660± (0,4742) ^e	0,0± (0,0) ^a	0	0	Ausente	Ausente	0 0 ^a
	Minimercado	M1	5,093± (0,076) ^a	2,915± (0,218) ^d	0	0	Ausente	Ausente	0 (0,005) ^a
		M2	4,9720± (0,037) ^a	0,1854± (0,3211)	0	0	Ausente	Ausente	0 (0,89) ^b
		M3	5,003± (0,077) ^a	1,856± (0,1934) ^e	0	0	Ausente	Ausente	0 (0,03) ^a
		M4	2,946± (0,098) ^{ab}	0,0± (0,0) ^a	0	0	Ausente	Ausente	0 0 ^a
		M5	0,3333± (0,577) ^a	0,0± (0,0) ^a	0	0	Ausente	Ausente	0 0 ^a
		M6	0,3333± (0,577) ^a	0,0± (0,0) ^a	0	0	Ausente	Ausente	0 0 ^a
	Tienda de barrio	M1	6,164± (0,204) ^{an}	0,0± (0,0) ^a	0	0	Ausente	Ausente	0 (0,32) ^e
		M2	5,982± (0,821) ^{ab}	2,0122± (0,901) ^c	0	0	Ausente	Ausente	0 (0,26) ^b
		M3	6,535± (0,3224) ^b	0,880± (0,763) ^b	0	0	Ausente	Ausente	0 (0,05) ^d
		M4	3,4526± (0,23) ^{ad}	0,0± (0,0) ^a	0	0	Ausente	Ausente	0 0 ^a
		M5	3,453± (0,137) ^{ad}	0,0± (0,0) ^a	0	0	Ausente	Ausente	0 0 ^a
		M6	2,416± (0,088) ^b	0,0± (0,0) ^a	0	0	Ausente	Ausente	0 0 ^a

Los superíndices diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (<0,05). Valor promedio ± Desviación estándar SD. *Esporas de *Clostridium sulfito reductor* (ECSR).

Tabla 4. Valoración de la microbiología para jamones cocidos lonchados empacados al vacío 25 días antes de la fecha de caducidad. (Adaptada de Salgado *et al.*, 2013).

Al observar la tabla 4, nos damos cuenta de que tres de las seis marcas comerciales no cumplen con los criterios de calidad para aerobios mesófilos. Las marcas M1, M2 y M3 superan el límite máximo permitido en calidad (5 Log₁₀ UFC/gr), pero sin embargo, las marcas M4, M5 y M6 se encuentran dentro del límite. Que las tres primeras marcas superen este límite, puede deberse a una posible contaminación cruzada del producto terminado.

Por otro lado, se observaron los coliformes totales, *E.coli*, *S. aureus* y *coagulasa* positivo. Estos microorganismos presentaron tras 15 días de fecha

de caducidad, que solo la muestra M1, superaba los valores máximos permitidos de calidad (2,69 log₁₀ UFC/g, 2 log₁₀ UFC/g 1 log₁₀ UFC/g). En el caso de *Salmonella*, esporas de *Clostridium* sulfito reductor y *Listeria* no se encontró crecimiento en ninguna de las muestras.

En cuanto a la relación entre las BAL, el deterioro y las propiedades fisicoquímicas de JCLEV, no se ha encontrado ninguna diferencia estadística significativa entre las muestras obtenidas de tiendas de barrio, minimercados y supermercados. La figura 11, muestras el comportamiento de cada una de las marcas que hemos utilizado, 25 días antes de la FV y 15 días después de ella.

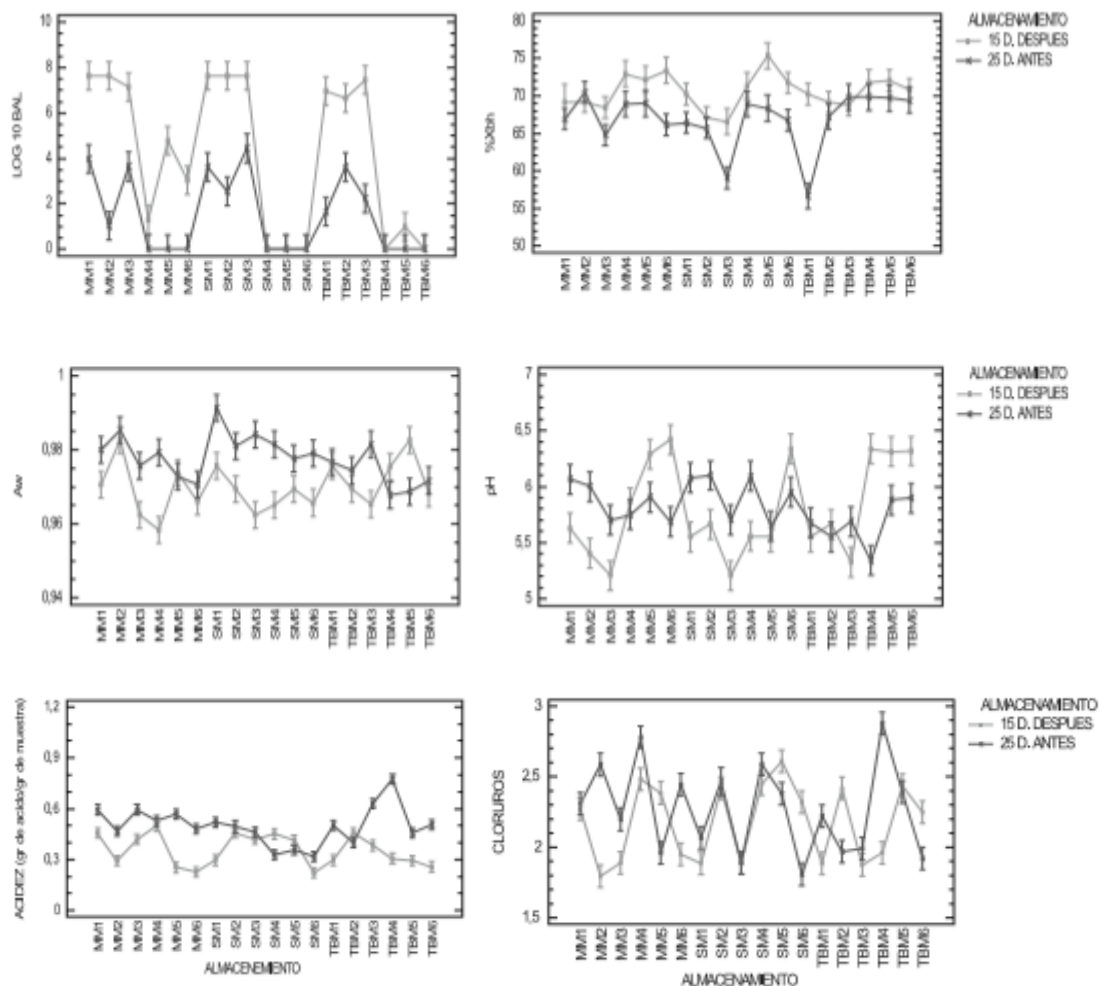


Figura 11. Propiedades fisicoquímicas y recuento de las BAL en las seis marcas comerciales de JCLEV, por un periodo de almacenamiento de 25 días antes de la FV y 15 días después. (Adaptada de Salgado *et al.*, 2013).

En los resultados de la figura 11, se observa un incremento de las BAL y la humedad, que va acompañado de un descenso del pH, acidez, cloruros y a_w en casi todos los casos, este comportamiento puede dar por la actividad metabólica de las BAL, lo cual ocasionaría el deterioro de los JCLEV y que presentó anomalías como pérdida de vacío y coloración, acumulación de gas y presencia de limo en las muestras M1, M2 y M3. Por lo que, el incremento de las BAL en las marcas M1, M2 y M3, superan el límite crítico establecido para las BAL ($6 \log_{10}$ UFC/gr), lo que provoca una disminución de pH, por efecto de la actividad metabólica lo que genera ácido láctico, este ácido se encarga de producir una síntesis de ácidos grasos en cadena corta que dan lugar a cambios en el olor y rechazo sensorial.

Según Rodríguez (2003), un JCLEV se encuentra alterado cuando la cantidad de ácido láctico supera los 3-4 mg/g o tiene un pH 5,8. Si se hace caso a este criterio, todas las marcas serían rechazadas por acidificación, que a su vez ayudaría a inhibir el crecimiento de otros microorganismos.

Las alteraciones que mostraron antes de la fecha de caducidad pueden ser atribuidas a las condiciones de fabricación, la excesiva manipulación, de los ingredientes que contiene, del empaque, de la cadena de frío, etc. También puede deberse a las inadecuadas condiciones de refrigeración que puede presentar los supermercados y minimercados, debido a que la mayoría de ellos superan las temperaturas óptimas de conservación ($2 \pm 1^\circ\text{C}$) y que puede sobrepasar a los $12 \pm 2^\circ\text{C}$. Puede ser que en los minimercados y tiendas de barrio, las temperaturas que alcancen estos productos puedan llegar a congelarlos o incluso a no refrigerarlos de ahí la aparición de nuevos microorganismos y cambios en la estructura organoléptica de los alimentos. También, podemos considerar que la composición química del jamón, pH, contenido en sal, etc., son pequeños obstáculos para inhibir el crecimiento de microorganismos asociados al deterioro del alimento. Por estas características los jamones envasados al vacío son considerados como los productos cárnicos más perecederos. Cuando crecen estos microorganismos, producen CO_2 por lo que a su vez produce que se pierda

el vacío del empaque, en general esto se relaciona con *Leuconostoc*. Al crecer esta bacterias comienza a aparecer humedad y un descenso de la actividad del agua por efecto de la pérdida de agua según González *et al.*, 2009.

Para contrarrestar los problemas anteriores la industria cárnica ha empleado la adicción de conservantes, y con ello retardar el crecimiento de microorganismos, como el caso de cloruro de sodio. Por otro lado, las BAL, pueden ser empleadas como indicativo de deterioro físico-químico, la falta de calidad en los procesos de elaboración del producto y las inadecuadas condiciones de almacenamiento, que influye de forma negativa sobre la estabilidad fisicoquímica y sensorial de los jamones conservados envasados al vacío.

6.3. Envasado en atmósferas modificadas

En cuanto a este estudio, observamos en la Tabla 5, que los recursos naturales de dehesa (pastos y bellota), son una gran fuente de antioxidantes naturales (α , γ -tocoferol y fenoles totales). Esto es importante en la fase final de engorde de los cerdos, debido a que este animal es monogástrico, ya que refleja sus tejidos en la composición de la dieta ingerida (Rey *et al.*, 1997). También se puede ver, que la principal fuente de γ -tocoferol la proporcionaron las bellotas y α -tocoferol de los pastos, de acuerdo con Tejerina *et al.*, 2012.

	<i>Pienso Comercial</i> ¹	<i>Bellotas</i> ²	<i>Pasto</i> ²	Significación ³
Composición antioxidante				
α -tocoferol (mg/kg MS)	7.0c $\pm$ 0.91	14.5b $\pm$ 1.3	29.8a $\pm$ 2.31	***
γ -tocoferol (mg/kg MS)	Trazas	58.3a $\pm$ 1.29	4.1b $\pm$ 0.62	***
Fenoles totales (g EAG /kg MS)	1.3c $\pm$ 0.82	12.8a $\pm$ 0.67	4.69b $\pm$ 1.3	***
Actividad antioxidante				
AAL (g Trolox/kg MS)	0.2c $\pm$ 0.03	0.6a $\pm$ 0.07	0.5b $\pm$ 0.03	***
AAH (g Trolox/kg MS)	2.6c $\pm$ 0.24	4.9b $\pm$ 0.61	11.9a $\pm$ 0.67	***

MS, materia seca; EAG, equivalentes de ácido gálico; AAL, Actividad antioxidante lipófila; AAH, Actividad antioxidante hidrófila.

¹ Pienso de crecimiento hasta alcanzar los 90 $\pm$ 5 kg de peso vivo.

² Composición de la dieta durante la fase final de engorde en Montanera. Valores están expresados como media $\pm$ DE de tres muestreos mensuales en una durante el periodo de Montanera.

³ *** (P $\leq$ 0.001).

Tabla 5. Composición antioxidante y actividad antioxidante de la dieta ingerida. (Adaptada de Prior *et al.*, 2013).

Por otro lado, en la tabla 6, se observan los resultados a lo largo del periodo de estudio para la composición antioxidante del músculo, donde se valora que el contenido de α y γ -tocoferol ha sido inferior ($P < 0,001$) a partir del D6 de envasado, donde ha ido disminuyendo progresivamente con el tiempo de conservación, que muestra un intervalo desde 2,84 hasta 0,71 $\mu\text{g/g}$ músculo en el caso de α -tocoferol, sin embargo, en el caso de γ -tocoferol se observa una disminución desde 0,64 hasta 0,24 $\mu\text{g/g}$ músculo.

Para averiguar el estado oxidativo, se usó el índice de TBA-RS (oxidación de lípidos) y la oxidación de proteínas, donde muestra un incremento ($p < 0,001$) durante el periodo de conservación que va desde 0,02 hasta 2,17 $\mu\text{g MDA/g}$ músculo si hablamos de TBA-RS, pero en el caso de las proteínas va desde 2,35 hasta 6,76 nm carbonilos/ mg, donde alcanza los niveles más altos en D24. Cuando sobrepasa a partir de D12 los 2 mg/kg, hablamos de sobrepasar el límite de aceptabilidad por el consumidor (Campo *et al.*, 2006).

Tras estos datos, se podría indicar que el uso de atmósferas modificadas con alta proporción de oxígeno pueden establecer relación con procesos de oxidación durante la conservación en refrigeración, por lo que presenta una buena relación antioxidante/prooxidantes.

Parámetros	Tiempo de conservación					EEM	<i>P</i> ¹
	Control	D6	D12	D18	D24		
Composición antioxidante (μg/g músculo)							
α- tocoferol	2.84a	2.45a	1.01b	0.64b	0.71b	0.166	***
γ- tocoferol	0.64a	0.57a	0.30b	0.28b	0.24b	0.030	***
Estado oxidativo							
TBARS (μg MDA/g músculo)	0.02c	0.15bc	1.02b	2.08a	2.17a	0.178	***
nm Carbonilos/ mg proteínas	2.35c	3.18bc	3.34bc	3.98b	6.76a	0.283	***

EEM, error estándar de la media; AAL, Actividad antioxidante lipófila; AAH, Actividad antioxidante hidrófila; TBARS, especies reactivas del ácido Tiobarbitúrico; MDA, malondialdehído. ¹ *** (*P* ≤ 0.001). ^{a, b, c}, diferentes superíndices en una misma fila, indican que existen diferencias significativas (*p*≤0.05) entre los días de envasado en atmósfera para el mismo músculo.

Tabla 6. Evolución del contenido en antioxidantes, estado oxidativo y actividad antioxidante del músculo *Longissimus dorsi* de cerdos Ibéricos de Montanera, envasado en atmósfera protectora (70%O₂ + 30%CO₂) durante 24 días a 4°C. (Adaptada de Prior *et al.*, 2013).

6.4. Irradiación

En el estudio realizado con carne res, en el cual se usó el método de conservación de irradiación, dio unos resultados microbiológicos, en los que se observa en la tabla 7, que se escogió el establecimiento 4 en donde los valores de enterobacterias superan $1,1 \times 10^4$.

Muestra	Analito	Unidades	Resultados
Establecimiento 1	Coliformes Totales	N.M.P/g	$> 1,1 \times 10^4$
Establecimiento 2			$> 1,1 \times 10^4$
Establecimiento 3			$1,1 \times 10^4$
Establecimiento 4			$> 1,1 \times 10^4$
Establecimiento 1	Coliformes Fecales	N.M.P/g	$> 2,4 \times 10^2$
Establecimiento 2			$> 1,5 \times 10^3$
Establecimiento 3			$1,5 \times 10$
Establecimiento 4			$> 1,1 \times 10^4$
Establecimiento 1	<i>Escherichia coli</i>	Positivo/Negativo	Positivo
Establecimiento 2			Positivo
Establecimiento 3			Positivo
Establecimiento 4			Positivo

Tabla 7. Resultados microbiológicos preliminares. (Adaptada de Salgado *et al.*, 2009).

Se realizó un análisis de la dosis óptima, en el cual el tratamiento empleado con 1500 Gy, asegura una reducción de 4 ciclos logarítmicos con respecto a la carga inicial, esto lo podemos observar en la figura 12.

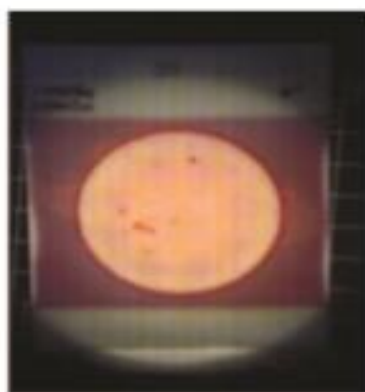


Figura 12. Placa Petrifilm del conteo de la muestra sometida a 1500 Gy. (Adaptada de Salgado *et al.*, 2009).

En cuanto a los resultados obtenidos tras la cuantificación de *E. coli* y coliformes totales, tras el uso de 0, 500, 750, 1000, 1250 y 1500 Gy, se observó que a la dosis óptima de las muestras sometidas a 1500 Gy, se pudo ver que existe una relación causa-efecto inversamente proporcional entre las dosis de irradiación que habían sido absorbidas entre la biomasa microbiana y la tasa de supervivencia (figura 13).

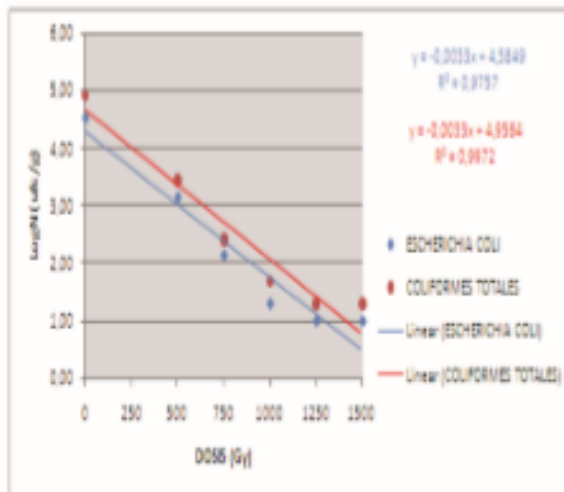


Figura 13. Supervivencia de los microorganismos sometidos a 0, 500, 750, 1000, 1250 y 1500 Gy. (Adaptada de Salgado *et al.*, 2009).

Además el valor D_{10} encontrado estaba en 350 Gy, en la cual se muestra que esa es la dosis necesaria para la reducción de microorganismos en un ciclo logarítmico, esto se puede observar en la tabla 8.

<i>Escherichia coli</i>			Coliformes Totales		
Dosis (Gy)	No (ufc/g)	log No	Dosis (Gy)	No (ufc/g)	log No
0	$3,36 \times 10^4$	4,53	0	$8,21 \times 10^4$	4,91
500	$1,39 \times 10^3$	3,14	500	$2,78 \times 10^3$	3,44
750	$1,39 \times 10^2$	2,14	750	$2,59 \times 10^2$	2,41
1 000	$1,99 \times 10^1$	1,00	1 000	$4,96 \times 10^1$	1,70
1 250	$1,00 \times 10^1$	1,00	1 250	$2,00 \times 10^1$	1,30
1 500	$9,96 \times 10^0$	1,00	1 500	$9,96 \times 10^0$	1,00

Tabla 8. Concentraciones de carga de los microorganismos examinados. (Adaptada de Salgado *et al.*, 2009).

Por otro lado, se observó que la irradiación a 1500 Gy, no alteraba el valor nutricional de proteínas, minerales, grasas saturadas o carbohidratos. Por lo que, las reacciones de oxidación pueden provocar una pérdida de ácidos grasos insaturados y generar sabores rancios. A esto se le puede añadir, que los alimentos con alta concentración de ácidos grasos insaturados no toleran bien el método de irradiación (tabla 9).

Muestra	Analito	Unidades	Resultados
Blanco	Proteína	(%) (g/100g)	20,50
	Extracto etéreo	(%) (g/100g)	11,80
1500 Gy	Proteína	(%) (g/100g)	16,88
	Extracto etéreo	(%) (g/100g)	9,06

Tabla 9. Resultados de proteína y grasa en carne res sometida a 0 y 1500 Gy. (Adaptada de Salgado *et al.*, 2009).

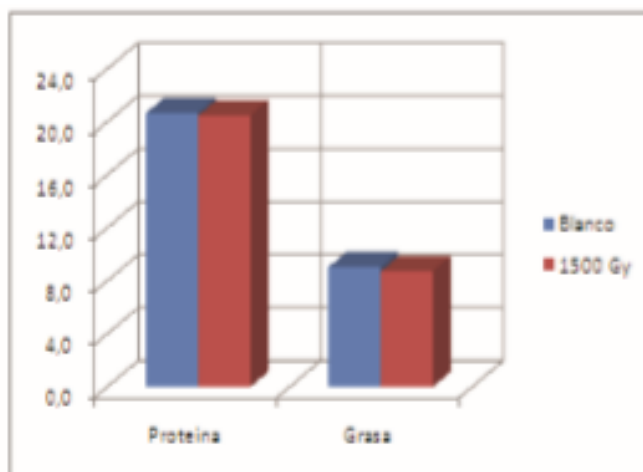


Figura 14. Contenido de proteína y grasa en la carne res sometida a 0 y 1500 Gy. (Adaptada de Salgado *et al.*, 2009).

Por último, en el análisis sensorial se realizó una ANOVA, en la cual no se encontró ninguna diferencia significativa entre la muestra de referencia y la de irradiación. Se analizó con una probabilidad del 95%. Aunque se observó que las muestras irradiadas tienen calificaciones menores que las de

referencia, no presenta una estadística significativa, en los atributos de aroma, jugosidad, sabor, apariencia, color y textura (tabla 10).

Parámetro evaluado	N	Referencia (valor promedio)	1500 Gy (valor promedio)
Apariencia (mejor-peor)	15	4,63	5,16
Aroma (intenso-débil)	15	5,27	4,40
Sabor (intenso-débil)	15	5,34	4,78
Color (más oscuro-más clara)	15	5,34	5,68
Jugosidad (muy jugosa-seca)	15	5,52	4,80
Textura (dureza: tierna-dura)	15	5,19	4,51

Tabla 10. Resultados de los análisis sensoriales. (Adaptada de Salgado *et al.*, 2009).

6.5. Altas presiones hidrostáticas

6.5.1. Método de APH sobre color y estabilidad oxidativa del jamón

En la figura 15 podemos observar la evolución de los parámetros de luminosidad (L^*) e intensidad (a^*) del color rojo de la superficie de las lonchas de jamón presurizado y no presurizado durante su almacenamiento en refrigeración. Las lonchas de jamón sufrieron una pérdida de color rojo en su exposición a la luz en las cabinas de refrigeración, hasta que llegaron a alcanzar valores mínimos en a^* tras tres días de comenzar el experimento. Pero sin embargo, en el almacenamiento, se lograron alcanzar valores similares a los del inicio de a^* .

Esta reducción y posterior recuperación del color rojo se ha observado en otros estudios de productos cárnicos curados (Andersen *et al.*, 1988; Juncher *et al.*, 2003). Al principio el color rojo de las lonchas presurizadas era menos intenso que las del lote control, este resultado coincide con el estudio de Andrés *et al.*, 2004,

pero por otro lado contrasta con estudios realizados con productos cárnicos tratados con calor, como es el caso del jamón cocido o salchichas, en los que el color no había resultado ser afectado negativamente tras ser sometidos a APH a 500 MPa. (Mor-Mur y Yuste, 2003).

El color rojo menos intenso de las muestras presurizadas y no presurizadas, se observó durante todo el tiempo de almacenamiento hasta su final tras 39 días.

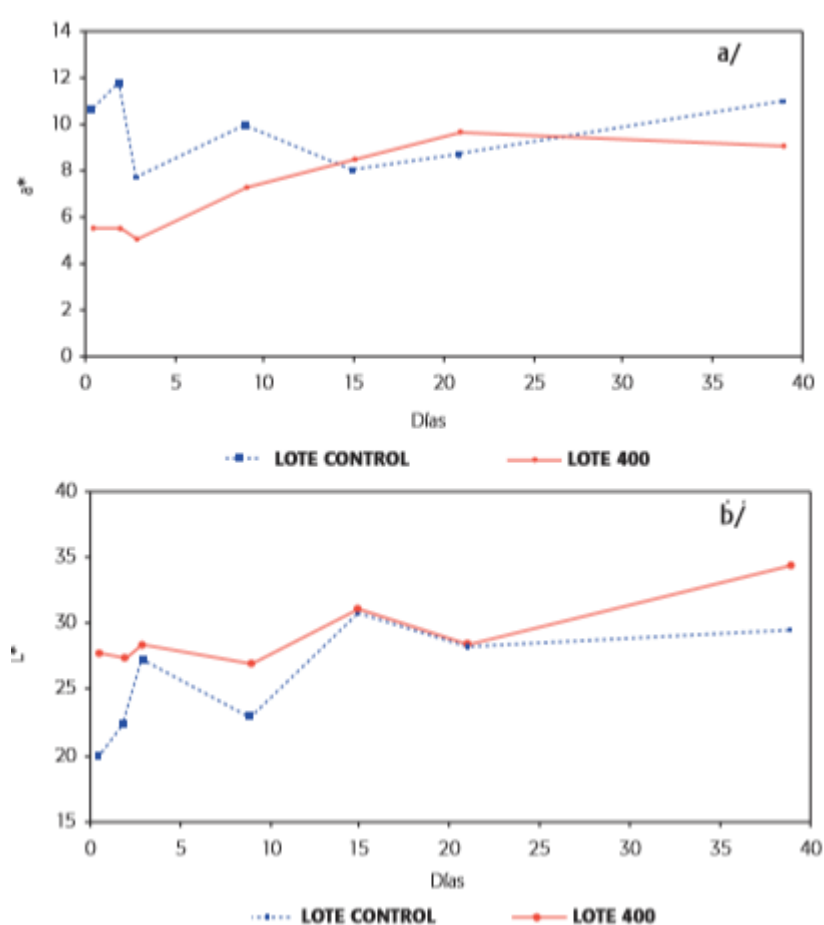


Figura 15. Evolución de a^* (intensidad) y L^* (luminosidad) en las lonchas de jamón no presurizado y presurizado con 400 MPa durante su almacenamiento en condiciones similares a la de los lineales. (Adaptada de Nieto *et al.*, 2004)

Por otro lado, respecto a la luminosidad, se muestra en la figura 15 que los resultados sugieren que el tratamiento de APH a 400MPa provoca luminosidad en el jamón, por lo que puede estar relacionado con los cambios que este método genera en las proteínas de la superficie (Chapleau y Lamvallerie-Anton, 2003).

Podemos observar la concentración de MbFe(II)NO que existe en el jamón durante el almacenamiento (Figura 16). La pigmentación sufrió una caída durante el almacenamiento de 18 días y permaneció constante durante el resto del tiempo. Tras la presurización de la presión, se observó que afectó a la concentración de MbFe(II)NO. Sin embargo, en el resto del almacenamiento las lonchas presurizadas mostraron concentraciones más descendentes de nitrosilmioglobina, por lo que las muestras no fueron significativas estadísticamente ($P < 0,05$). Todo esto ha ocurrido al contrario en lo que se esperaba, según otros estudios (Bruun-Jensen, Sosniecki y Skibsted, 1997). Los resultados que se han obtenido, sugieren que la nitrosilmioglobina puede ser sensible a la APH de 400 MPa. Lo que ayudaría a entender la descoloración producida por las altas presiones.

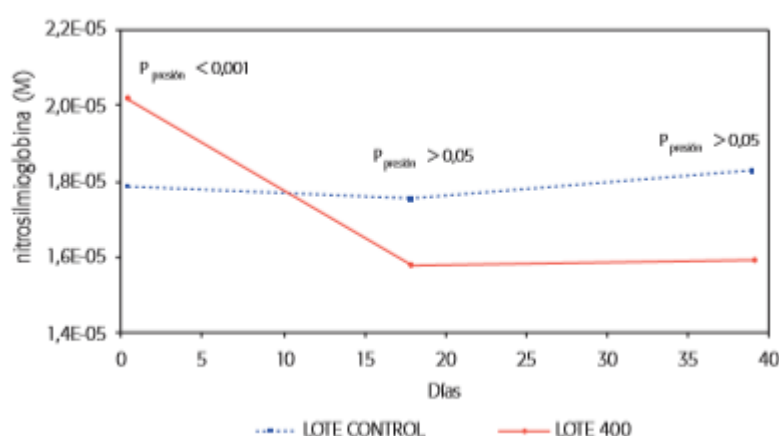


Figura 16. Concentración de nitrosilmioglobina (M) en el filtrado a partir de jamón ibérico no presurizado y presurizado con 400MPa durante su almacenamiento en condiciones similares a la de los lineales. (Adaptada de Nieto *et al.*, 2004)

Por último, el índice de TBA (parámetro más utilizado para evaluar el grado de deterioro de determinados alimentos) se muestra expresado en la figura 17, como mg de malondialdehído/kg de material seca. En un principio, no se observaron diferencias. Pero tras 39 días, las lonchas presurizadas mostraron valores similares en las lonchas del lote control y del lote 400. A los 18 días se observó que las lonchas no presurizadas se oxidaron más que las presurizadas con 400 MPa. Este resultado fue parecido a estudios realizados anteriormente (Dissing *et al*, 1997). Tras 39 días, las lonchas presurizadas mostraron valores algo más elevados del índice de TBA aunque las diferencias no fueron muy significativas ($P < 0,05$). También, por lo otro lado, se sabe que existe una relación directa entre los pigmentos y la oxidación lipídica (Mikkelsen y Bertelse, 1998), por lo que una oxidación lipídica más intensa conduce a una menor estabilidad de color.

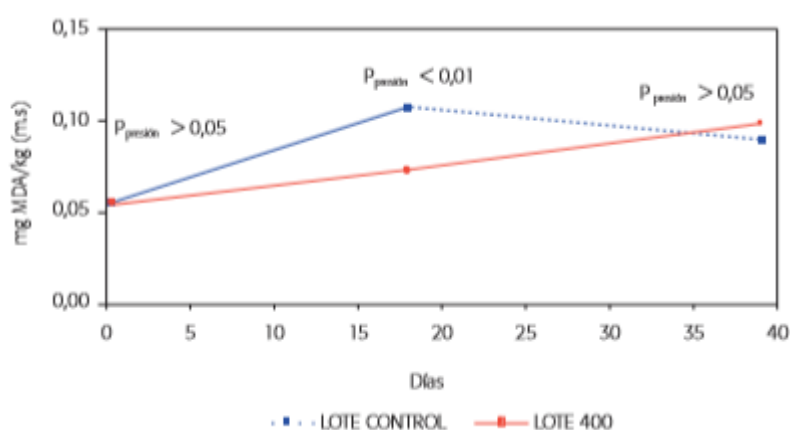


Figura 17. Índice de TBA en lonchas de jamón ibérico no presurizado y presurizado con 400 MPa durante su almacenamiento en condiciones similares a los lineales. (Adaptada de Nieto *et al.*, 2004)

6.5.2. Método de APH en la composición de ácidos grasos en el embutido

Las tablas 11 y 12 muestran los datos obtenidos par alguno de los ácidos grasos totales y ácidos grasos libres. En el caso de la

composición total no se observan cambios apreciables por el efecto de la aplicación de altas presiones. Se puede ver un porcentaje inferior en el ácido graso C18:1 (n-9) (oleico), aunque no es significativo por la variabilidad que presentan las muestras tratadas con altas presiones.

Tratamiento	Ácidos grasos											
	C16:0		C18:0		C18:1 (n-9)		C18:2 (n-6)		C18:3 (n-3)		C20:4 (n-6)	
	x	sd	x	sd	x	sd	x	sd	x	sd	x	sd
Control	20,6	0,3	10,2	0,3	38,1	1,7	15,2	1,5	0,1	0,0	3,2	0,6
Alta Presión	20,3	0,5	10,3	0,3	36,8	3,5	16,2	2,5	0,1,0	0,0	3,7	1,3

Tabla 11. Composición porcentual de ácidos grasos de jamón curado con APH (Adaptado de García Regueiro *et al.*, 2008)

Por otro lado, en el ácido linoleico C18:2 (n-6) y el quinódico C20:4 (n-6) se observó unos porcentajes superiores aunque solo en 1% y 0,5%, pero con mayor variabilidad como el ácido oleico. Esto puede dar a lugar a que el método de altas presiones no causa cambios en los ácidos grasos de lonchas de jamón envasadas al vacío.

Tratamiento	Ácidos grasos											
	C16:0		C18:0		C18:1 (n-9)		C18:2 (n-6)		C18:3 (n-3)		C20:4 (n-6)	
	x	sd	x	sd	x	sd	x	sd	x	sd	x	sd
Control	71,5	10,8	41,2	7,6	71,2	28,4	48,8	27,5	1,8	1,2	17,7	7,0
Alta Presión	65,8	12,9	39,3	8,1	63,6	28,8	57,0	37,7	2,2	1,3	20,3	12,0

Tabla 12. Composición de los ácidos grasos libres de jamón curado tratado con APH (Adaptado de García Regueiro *et al.*, 2008)

Pero sin embargo, debido a que la composición de los ácidos grasos totales no identifica cambios en los diferentes tipos de lípidos, se ha estudiado que los ácidos grasos libres pueden tener una posible modificación debido a la rotura de membranas, fenómenos físicos sobre la estructura tisular del músculo y a la acción de las enzimas. En la tabla 12, se pueden observar los resultados de distintos ácidos grasos.

Los ácidos grasos palmítico C16:0, oleico C18:1 y esteárico C18:0 mostraron concentraciones inferiores con dispersiones similares. Pero los ácidos linoleico y linolénico C18:3 (n-3) y araquidónico presentaron concentraciones superiores. Se puede interpretar como una liberación de ácidos grasos de lípidos polares de membrana, esto puede ocurrir por la presencia de ácidos araquidónico y linoleico. Aunque también el ácido esteárico está presente en grandes porcentajes en los lípidos polares. Estos datos, sugieren modificaciones de la estructura de lípidos polares pero que se debe de profundizar para poder confirmar la hipótesis. En el caso de una mayor concentración de ácidos grasos poliinsaturados en los jamones tratados con APH podría dar lugar a una mayor oxidación, pero esto no se ha observado en el estudio de análisis sensorial ni con la determinación de TBA.

6.5.3. Método de APH para la minimización de riesgos asociados con *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* en embutido

El método de APH fue efectivo para la inactivación de *Salmonella* en ambos ensayos. En primer lugar el ensayo A (a 300MPa) no nactivó en su totalidad a la población de *Salmonella*, pero conformen pasaron los días, en el sexto día, hubo un recuento inferior al recuento del patógeno en las muestras no tratadas (figura 18).

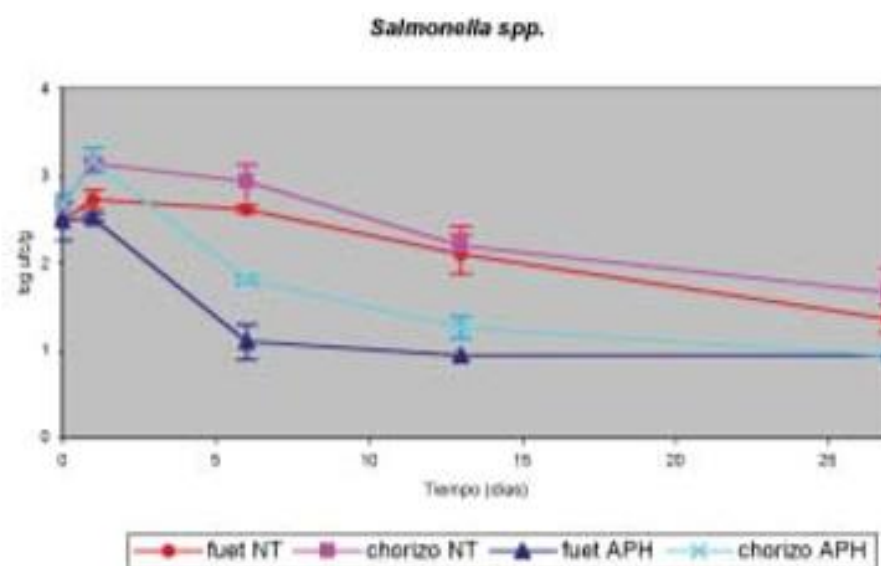


Figura 18. Evolución de *Salmonella* spp. durante el proceso de maduración en embutidos sometidos a APH a 300MPa. (Adaptada de Garriga *et al.*, 2003)

Cuando el producto se encuentra acabado a los 28 días de maduración, el recuento de *Salmonella* fue inferior al nivel de detección (10ufc/g) sólo en las muestras que habían sido presurizadas, aunque había presencia en 25g de las no tratadas. Por otro lado en el ensayo B (a 400MPa) se eliminó *Salmonella* de las muestras tratadas tanto de fuet como de chorizo (tabla 13).

Ensayos		NT	APH
300 MPa, 10 min, 15°C	fuet	1,37 ± 0.16*	<10
inicio proceso			
(A)	chorizo	1,67 ± 0.28	<10
400 MPa, 10 min, 18°C	fuet	1/3**	0/3
final proceso			
(B)	chorizo	2/3	0/3

* Recuentos expresados en log ufc/g ± ds de triplicados.
 ** Expresado como número de muestras positivas (presencia en 25 g)/ número de muestras investigadas.

Tabla 13. Determinación de *Salmonella* spp. en 25g del producto final del proceso de maduración. (Adaptada de Garriga *et al.*, 2003)

En el caso de *L.monocytogenes*, la técnica de APH a 300MPa en el ensayo A, provocó un descenso inmediato en la población de este microorganismo (figura 19). Pero se detectó una recuperación de las células supervivientes en la maduración en el chorizo mayor que en el fuet, dejó de observarse diferencias en los recuentos de *L.monocytogenes* entre las muestras que habían sido presurizadas y las que no, en el tiempo final, es decir a los 28 días.

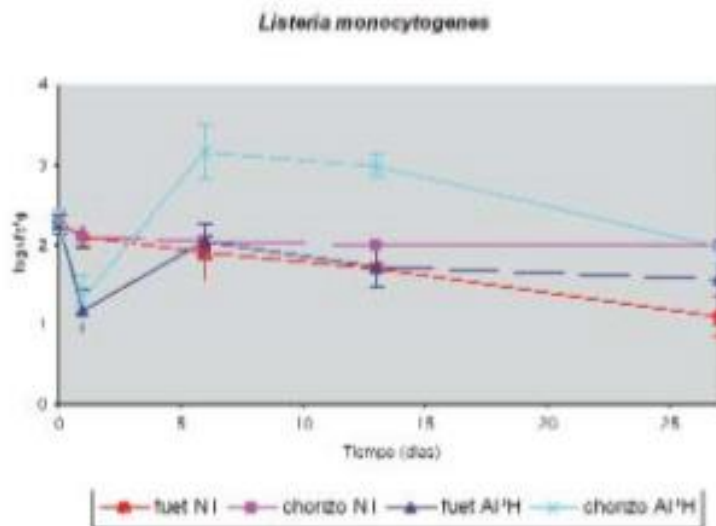


Figura 19. Evolución de *L.monocytogenes* durante la maduración en embutidos sometidos a APH a 300MPa al inicio del proceso y después de embutir. (Adaptada de Garriga *et al.*, 2003)

Se observó que la presurización al inicio del proceso desencadenó un doble efecto en el proceso de maduración: se detectó un aumento del pH después del tratamiento de APH (figura 20b) y además las bacterias lácticas se inactivaron y no se recuperaron hasta 6 días de maduración (figura 20a).

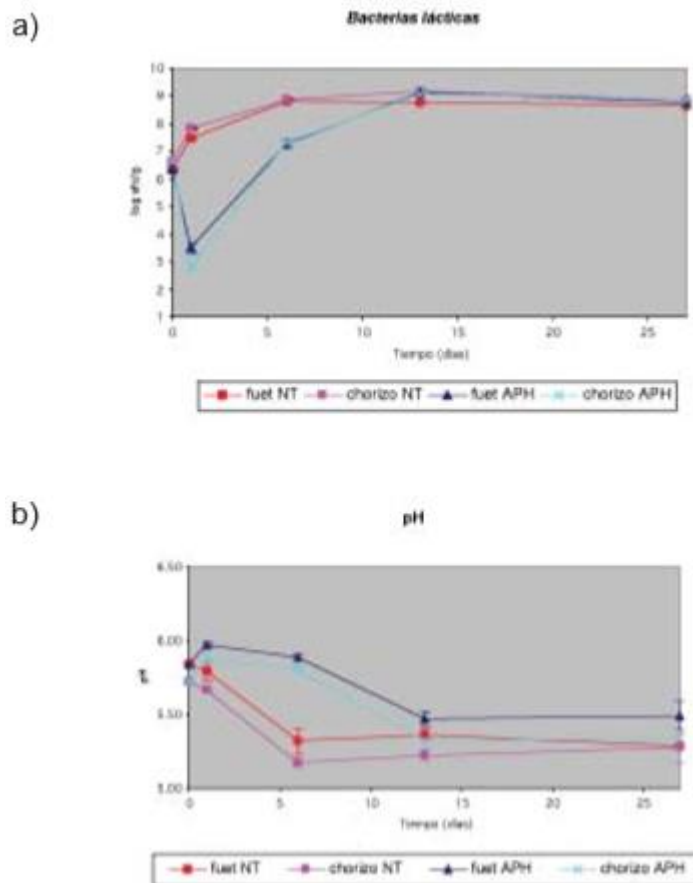


Figura 20 a y b. Evolución de bacterias lácticas (a) y evolución del pH (b) en el proceso de maduración de embutidos sometidos a APH a 300MPa. (Adaptada de Garriga *et al.*, 2003)

El aumento del pH y la disminución en el crecimiento de bacterias lácticas, provocó que resultase perjudicial desde el punto de vista tecnológico debido a que disminuyeron importantes barreras que participan en el proceso de fermentación contra el crecimiento de microorganismos patógenos.

En el ensayo B, la aplicación de APH, no consiguió una reducción del recuento de *L.monocytogenes*. Los embutidos que ya habían madurado y habían sido sometidos a dicha presión no mostraron cambios en su pH.

7. CONCLUSIONES

1. Los resultados que se han ido obteniendo en cada uno de los estudios escogidos de cada tipo de método para la conservación alimentaria del jamón, han mostrado su eficacia para conservar las características organolépticas de este alimento y además intervenir en la inactivación de varios microorganismos patógenos y no patógenos.
2. En cuanto a la refrigeración-congelación de los jamones ibéricos, esta técnica ha indicado una influencia sobre los parámetros físico-químicos y además el desarrollo de reacciones lipolíticas y proteolíticas en este alimento, donde se han visto también afectados los lípidos y aminoácidos del jamón. A pesar de que el jamón es un producto curado, se ha observado que la técnica de refrigeración-congelación de los perniles ibéricos afecta también en el proceso de maduración.
3. En el caso del estudio del método de conservación de envasado al vacío, los paquetes de jamón que habían sido escogidos para realizar el estudio, se encontraban alterados 25 días antes de la fecha de caducidad, debido al crecimiento de bacterias ácido lácticas. De este modo, se ha observado que la cadena de frío y los controles que ejercen las empresas son ineficaces sobre las bacterias ácido lácticas, y estas al producirse afectan en la vida útil del alimento, ya que provoca la pérdida de vacío y cambios de color.
4. El envasado en atmósferas modificada muestra que su uso con una alta proporción de oxígeno pueden relacionarse con la producción de oxidación en el alimento. Se podría afirmar que la carne de lomo de los cerdos ibéricos, aunque tienen antioxidantes naturales, presentan una tendencia a oxidarse durante su almacenamiento en refrigeración cuando está envasada en atmósferas modificadas.
5. En los resultados del estudio de irradiación se pudo verificar que tras las dosis de 1500Gy, se había logrado disminuir los recuentos de *E.coli*

y coliformes totales, logrando así disminuir en 4 ciclos logarítmicos la carga microbiana. Además con este tratamiento se observó, que con una dosis de 1500Gy, las propiedades de la carne molida res no se ven afectadas.

6. En cuanto a los tratamientos con Altas Presiones Hidrostáticas, las APH a 400MPa reducen la estabilidad del color del jamón ibérico y también afectan de forma más limitada a la estabilidad oxidativa de este alimento. No provocan cambios en los ácidos grasos totales del jamón serrano, tras los estudios realizados y tras observar diferentes tipos de ácidos grasos, aunque algunos de ellos, como el ácido esteárico están presentes con porcentajes importantes en los lípidos polares del jamón. Microorganismos como *L.monocytgenes* y *Salmonella* en embutidos, y tras los resultados obtenidos en las condiciones ensayadas, se ha podido concluir que las características sensoriales valoradas y la minimización de *Salmonella* hubiera sido más efectiva si se hubiese aplicado el tratamiento de APH a 400MPa tras el proceso de maduración.

8. BIBLIOGRAFÍA

Abedi, K.R., Lim, W.Z., Basri, M., Abdul Rahman, M.B. (2014). Molecular dynamics of thermoenzymes at high temperature and pressure: a review. *The Protein Journal*, 33: 369-76.

Alves, V.F., Martínez, R.C.R., Lavrador, M.A.S., De Martinis, E.C.P. (2006). Antilisterial activity of lactic acid bacteria inoculated on cooked ham. *Meat Science*, 74: 623-627.

Andersen, H.J., Bertelsen, G., Boegh-Soerensen, L., Shek, C.K. & Skibsted L.H. (1988). Effect of light and packaging conditions on the colour stability of sliced ham. *Meat Science*, 22: 283-292.

Arnau, J. (1991). Contribución a la calidad tecnológica del jamón curado elaborado por procesos acelerados. Tesis. Universidad Autónoma de Barcelona.

Arnau, J., Gou, P., & Comaposada, J. (2003). Effect of the relative humidity of drying air during the resting period on the composition and appearance of dry-cured ham surface. *Meat Science*: 65: 1275-1280.

Aymerich, T., Picouet, P., Monfort, J. (2008). Decontamination technologies for meat products. *Meat Science*, 78: 114-129.

Bajovic, B., Bolumar, B., Heinz, V. (2012). Quality considerations with high pressure processing of fresh and value added meat products. *Meat science*, 92: 280-289.

Baldini, P., Bernardi, E., Raczyński, R. (1977). Indagini sul prosciutto tipico de Parma. *Indiana Conservación*, 52: 16-26.

Bhandare, S.G., Sherikar, A., Patukar, A., Waskar, V., Zende, R. (2007). A comparison of microbial contamination on sheep/goat carcasses in a modern Indian abattoir and traditional meat shops. *Food Control*, 18: 854-858.

Brody, A.L. (1996). Envasado de Alimentos en Atmósferas Controladas, Modificadas y en Vacío. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A.

Brown, M.H. (1982). Meat Microbiology. London Applied Science Publisher LTD.

- Bruun-Jensen, L., Sosniecki, L. & Skibsted, L. (1997). Pressure effects on acid-catalysed autoxidation of oxymyoglobin. *European Food Research Technology*, 205: 407-410.
- Buzrul, S. (2014). Multipulsed high hydrostatic pressure inactivation of microorganisms: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. *In Press, Corrected Proof*, 26.
- Campo, M. M., Nute, G. R., Hughes, S. I., Enser, M., Wood, J. D. y Richardson, R. I. 2006. *Meat Science*, 72: 303-311.
- Canssens, R-G., Ito, T., Lee, M., Buege, D. (1978). The use of nitrite in meat. *Bio Science*, 28: 633-637.
- Cantoni, C., Rossetti, R., Comi, G., Damieno, E. (1982). Tossicità di insaccaticrudi stagionati contaminati da *Aspergillus ochraceus*. *Industrial Alimentant*, 21: 630- 634.
- Carballo, B.M., López de Torre, G. (1991). Manual de bioquímica y tecnología de la carne. *Madrid: Ediciones A. Vicente*, 10-109.
- Carpentier, B., Cerf, O. (1993). Biofilms and their consequences with particular references to hygiene in the food industry. *Journal of Applied Bacteriology*, 75: 499-511.
- Cayuela, J.M., Garrido, M.D., Sancho Bañón, J. & Ros, J.M. (2003). Simultaneous HPLC Analysis of α -Tocopherol and Cholesterol in Fresh Pig Meat *J Agric Food Chem*. 51: 1120-1124.
- CDC, Centers for Disease Control and Prevention (2006). Multistate outbreak of *Salmonella* Typhimurium infections associated with eating ground beef-United State, 2004.
- Chapleau, N.J & Lamvallerie-Anton, M.I. (2003). Changes in myofibrillar proteins interactions and rheological properties induced by high-pressure processing. *European Food Research Technology*, 216: 470-476.
- Chawla, R., Patil, G.R., Singh, A.K. (2011). High hydrostatic pressure technology in dairy processing: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 48: 260-268.

Chmielewsky, R.A.N., Frank, J.F. (2003). Biofilm formation and control in food processing facilities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2: 22-32.

Clariana, M., Guerrero, L., Sárraga, C., Díaz, I., Valero, A., García-Regueiro, J.A. (2011). Influence of high pressure application on the nutritional, sensory and microbiological characteristics of sliced skin vacuum packed drycured ham. Effects along the storage period. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12: 456-465.

Costerton, J.W., Stewart, P.S., Greenberg, E.P. (1999). Bacterial Biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284: 1318-1322.

Crespo, A., Guerrero, P., González, C. (2006). Nuevas técnicas de conservación de derivados del cerdo ibérico. *La agricultura y la ganadería extremeñas*. 5: 83-98.

Cressy, H.K., Jerrett, A.R., Osborne, C.M., Bremer, P.J. (2003). A novel method for the reduction of numbers of *Listeria monocytogenes* cells by freezing in combination with an essential oil in bacteriological media. *Journal of Food Protection*, 66: 390-395.

Croxen, M.A., Finlay, B.B. (2009). Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Review a Microbiology*, 8: 26-38.

Da, L.L., Mejía, C. (2012). Evaluación de métodos de extracción de ADN para detección de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos. *Revista MVZ Córdoba*, 17: 3169-3175.

Delgado-Adamez, J., Franco, M.N., Sánchez, J., De Miguel, C., Ramírez, M.R., Martín-Vertedor, D. (2013). Comparative effect of high pressure processing and traditional thermal treatment on the physicochemical, microbiology, and sensory analysis of olive jamon. *Grasas y Aceites*, 64: 432-441.

De Valk, H., Jacquet, C, Goulet, V., Vaillant, V., Perra, A., Simon, F., Desenclos, J., Martín, P. (2005). Surveillance of *Listeria* infections in Europe. Eurosurveillance: bulletin europeen sur les maladies transmissibles. *European Communicable Disease Bulletin*, 10: 251-255.

Dissing, J., Bruun-Jenen, L. & Skibsted, L.H. (1998). Effect of high-pressure treatment on lipid oxidation in turkey thigh muscle during chill storage. *European Food Research Technology*, 205:11-13.

Donlan, R.M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8: 881-890.

Dykes, G.A., Cloete, T.E., Van Holy, A. (1991). Quantification of microbial populations associated with the manufacture of vacuum package, smoked Vienna sausages. *International Journal Food Microbiology*, 13: 239-248.

Erkmen, O., Bozkurt, H. (2004). Effect of nitrate/nitrite on the quality of sausage (sukuc) during ripening and storage. *Journal of Science of food and agriculture*, 84: 279-286.

Escalante, A. S., Urrutia, G. R. T., Arriola, J. P. C., Méndez, N. F. G., Watanabe, G. H. (2008). Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de la carne y los productos cárnicos. *Nacameh*, 2: 124-159.

Eurosurveillance: bulletin europeen sur les maladies transmissibles. *European Communicable Disease Bulletin*, 10: 251-255.

Evaluation in selective and nonselective medium. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8: 478-484.

Farkas, J. (1998). Irradiation as a method for decontaminating food: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 44: 189-204.

Fields, F.O. (1996). Use of bacteriocins in food: regulatory considerations. *Journal of Food Protection*, 59: 72-77.

Fleischforschung. Kulmbach. BOE (9-3-1985). Lista positiva de aditivos para uso en la elaboración de salazones cárnicas curadas o no 59, 6022.

Flores, J. (1977). Parámetros de calidad utilizados para la normalización o tipificación de los productos cárnicos. *Rev Agrop Tecnol Aliment*, 17: 50-444.

Flores, M., Aristoy, M.C., Spanier, A.M., Toldrá, F. (1997). Non-volatile components effects on quality of "serrano" dry cured ham as related to processing time. *Journal of Food Science*, 62: 1235-1239.

- Frazier, W.C. (1972). Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia. España.
- Fornias, O.V., Díaz, C.V. (1999). Clasificación de los productos cárnicos. *Revista Cubana Alimentos Nutrición*, 13: 63-7.
- Forrest, C.J., Aberle D.E., Hedrick, B.H., Judge, .D.M., Merkel, A.R. (1979). Fundamentos de Ciencia de la Carne. *Editorial Acribia. Zaragoza, España*, pp.
- Fuster i Valls N. (2006). Importancia del control higiénico de las superficies alimentarias mediante técnicas rápidas y tradicionales para evitar y/o minimizar las contaminaciones cruzadas. Bellaterra: Universitat Autònoma de Barcelona, 2007. Tesis doctoral ISBN 9788469067338.
- Garriga, M., Marcos, B., Aymerich, T., Hugas, M. (2003). Prospectiva de aplicación de altas presiones para la minimización de riesgos asociados a Salmonella y Listeria monocytogenes en embutidos madurados en frío. *Eurocarne*, 121: 93-99.
- Garriga M., Aymerich, T. (2009). Advanced decontamination technologies: high hydrostatic pressure on meat products. *Safety of meat and processed meat, Springer*, 1: 183-208.
- Helcheman, H., Kasprowiak, R. (1991). Microbiological criteria for stable products. *Fleischwirtschaft*, 71: 7-1303.
- Gill, C.O. (1982). Microbial Interaction with meats. *London Applied Science Publisher LTD*, pp 225-264.
- Gill, C.O., McGinnis, J.C. (1995). The effects of residual oxygen concentration and temperatura on the degradation of the color of beef packaged under oxygen-depleted atmospheres. *Meat Science*, 39: 337-394.
- Giolitti, G., Cantoni, C., Bianchi, M., Renon, P. (1971). Microbiology and chemical changes in raw hams of ItaHan type. *The Journal of applied bacteriology*, 34: 51-61.
- Heredia, N., Aviña., J.E., Soto, L.S., García, S. (2014). Productos cárnicos: principales patógenos y estrategias no térmicas de control. *Nacameh*, 8: 20-42.

- Hernández, E., Huerta, T. (1993). Evolución de los parámetros microbiológicos del jamón curado. *Microbiología*, 9: 10-19.
- Hill, M., Chem C., Path, F. (1996). Nitrite and Nitrate as food additive: rationale and mode of action. *Cambridge: Wood head Publishing Limited*, 6: 3-130.
- Hornsey, H.C. (1956). The colour of cooked cured pork. Estimation of the Nitric oxide-Haem pigments. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 7: 534-540.
- Huang W., Bi, X., Zhang, X., Liao, X., Hu, X., Wu, J. (2013). Comparative study of enzymes, phenolics, carotenoids and color of apricot nectars treated by high hydrostatic pressure and high temperature short time. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 18: 74-82.
- Hugas, M. (1993). Acción antimicrobiana de las bacterias lácticas: sistemas naturales de conservación de los alimentos. *Eurocarne*, 45:47-52.
- Hugas, M. (1998). Bacteriocinogenic lactic acid for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Science*, 49: 139-150.
- Hugas, M., Garriga, M., Monfort, J. (2002). New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. *Meat science*, 62: 359-371.
- Huerta, T., Sanchís, V., Hernández, J., Hernández, E. (1987). Enzymatic activities and antimicrobial effects of *Aspergillus* and *Penicillium* strains isolated from Spanish dry-cured hams. *Microbiología, Alimentos y Nutrición*, 5: 289-294.
- Huerta, T., Hernández, J., Guamis, B., Hernández, E. (1988). Microbiological and physico-chemical aspect in drysalted Spanish ham. *Zentralbl Mikrobiol*, 149: 475-482.
- Hwang, C.A., Fan, X. (2015). Processing, quality and safety of irradiated and high pressureprocessed meat and seafood products. *Springer*, 1: 251-278.
- ICMSF. 2001. Microorganismos de los alimentos 6. Ecología microbiana de los productos alimentarios. Editorial Acribia. Zaragoza.
- ISO (1973). Meat and meat product-determination of moisture content method 1442. ISO. Ginebra.

- Jalang'O, J.W., Saul, G.L., Lawrie, R.A. (1987). Observations on muscle press juice from bovine, ovine and porcine muscles. *Meat Science*, 21: 73-76.
- Juncher, D., Vestergaard, C.S., Søltoft-Jensen, J., Weber, C.J., Bertersen, G., Skibsted, L.H (2003). Effects of chemical hurdles on microbiological and oxidative stability of a cooked cured emulsion type meat product. *Meat Science*, 55: 483-491.
- Jurado Jiménez, R., Arenas Muñoz, C., Doblas Delgado, A., Rivero, A., Torrecisneros, J. (2010). Fiebre tifoidea y otras infecciones por salmonellas. *Medicine Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 10: 3497-3502.
- Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H.L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2:123-140.
- Kathariou, S. (2002). *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenity, a food safety perspective. *Journal of Food Protection*, 65: 1811-1829.
- Kilcast, D., Angust, F. (2007). Reducing salt in foods. *Practical strategies*, 1: 157-217.
- Kraigsley, A., Ronney, P.D., Finkel, S.E. (2002). Dynamics of self propagating fronts of motile bacteria.
- Koohmaraie, M., Arthur, T., Bosilevac, J., Guerini, M., Shackelfo, R.D., Wheeler, T. (2005). Post-harvest interventions to reduce/eliminate pathogens in beef. *Meat Science*, 71: 79-91.
- Kumar, C.G., Anand, S.K. (1998). Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 42: 9-27.
- Kundu, D., Gill, A., Lui, N., Goswami, R., Holley, R. (2014). Use of low dose e-beam irradiation to reduce *E. coli* O157: H7, nonO157 (VTEC) *E. coli* and *Salmonella* viability on meat surfaces. *Meat Science*, 96: 413-418.
- Lee, E.J., Ahn, D.U. (2009). Advanced decontamination technologies: irradiation in safety of meat and processed meat, *Springer*, 1: 209-228.

Leistner, L. (1985). Allgemeines über Rohwurst und Rohschinken, In: Mikrobiologie und Qualität von Rohwurst and Rohschinken.

Lundquist, B.R. (1994). El envasado de la carne y los productos cárnicos. *Ciencia de la Carne y los Productos Cárnicos*, 1: 441-455.

Liu, Q., Scheller, K.K. & Schaeffer, D.M. (1996). Technical note: a simplified procedure for vitamin E determination in beef muscle *J Anim Sci*. 74: 2406-2410.

Lugo, E.B. (2008). Nitritos y Nitratos: Su uso, control y alternativas en embutidos cárnicos. *Nacameh*, 2:160-187.

Mclaughlin, J.B., Castrodale, L.J., Gardner, M.J., Ahmed, R., Gessner, B.D. (2006). Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium infections associated with eating ground beef served at a school potluck. *Journal of Food Protection*, 69: 666-670.

Mor-Mur M., & Yuste, J. (2003). High pressure processing applied to cooked sausage manufacture: physical properties and sensory analysis. *Meat Science*, 65: 1187-1191.

Mintzlaff, H.J., Leistner, L. (1972). Untersuchungen zur selektion eines technologisch geeigneten und toxikologisch unbedenklichen schimmelpilz stammes für die rohwurst-herstellung. *Zentralblatt für Veterinärmedizin*, 19: 291-300.

Nieto, A.I.A, Møller, J., Adamsen, C., Ruiz, J., Skibsted, L. (2004). Efecto de la aplicación de alta presión hidrostática (APH) sobre el color y estabilidad oxidativa de jamón ibérico loncheado y envasado en atmósfera modificada. *Eurocarne*, 131: 47-52.

Norton, T., Sun, D, W. (2008). Recent Advances in the Use of High Pressure as an Effective Processing Technique in the Food Industry. *Food and Bioprocess Technology*, 1: 2-34.

Nørnung B., Andersen J.K., Buncic S. (2009). Main concerns of pathogenic microorganism in meat. *Safety of meat and processed meat*, 1: 3-29.

Ordóñez, J.A. (1993). Volumen monográfico de los alimentos. *Microbiología del jamón serrano*, 9: 6-20.

- Patterson, M.F. (2005). A Review Microbiology of pressure-treated foods. *Journal of Applied Microbiology*, 98: 1400-1409.
- Peleg M., Corradini, M.G., Normand, M.D. (2012). On quantifying nonthermal effects on the lethality of pressure-assisted heat preservation processes. *Journal of Food Science*, 77: 47-56.
- Pérez-Palacios, T., Ruiz, J., Toldrá, F., & Antequera, T. (2010). Influencia de la congelación de perniles Ibéricos sobre parámetros físico-químicos de la materia prima (I). *Eurocarne*, pp. 92-100.
- Pérez-Palacios,T., Ruiz,R., Martin,D., Muriel,E., Antequera,T. (2009). Comparison of different methods for total lipid quantification. *Food Chemistry*, 110:1025-1029.
- Poma, J. (1980). Etude de quelques facteurs influençant la fabrication des jambons secs. *VPC*, 1: 21.
- Portocarreto, S.M., Newman, M., Mikel, B. (2002). Staphylococcus aureus survival, staphylococcal enterotoxin production and shelf stability of countrycured hams manufactured under different processing procedures. *Meat Science*, 62: 267-273.
- Quing-Li, D., Kang, T., Yang-Li, G., Jia-Li, Y., Hai Wang, Yu-yang Chen. (2007). The effect of sodium Nitrite on textural properties of cooked sausage during cold storage, *Journal of Texture Studies*, 38:537-554.
- Regueiro, J. A. G., Clariana, M., & Díaz, I. (2008). Efecto del tratamiento con altas presiones en la composición de ácidos grasos en jamon curado loncheado. *Eurocarne: La revista internacional del sector cárnico*, 1: 153-156.
- Rendueles, E., Omer, M., Alvseike, O., Alonso-Calleja, C., Capita, R., Prieto, M. (2011).Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 44: 1251-1260.
- Rey, A.I., Isabel, B., Cava, R. & Lopez-Bote, C.J. 1998. *Journal animal Science*, 78: 441-443.

Rodríguez, M. (2003). Desarrollo y validación de modelos matemáticos para la predicción de vida comercial de productos cárnicos. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria - Universidad de Córdoba.

Rosset, R. (1982). Chilling freezing and thawing. *En Meat Microbiology, Brown, M.H., London Applied Science Publishers LTD*, 1: 265-318.

Rubio, B., Martínez, B., Carcía-Cachán, M.D., Rovira, J., Jaime, I. (2007b). Effect of high pressure preservation on the quality of dry cured beef "Cecina de Leon". *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8: 102-110.

Ruiz, J., Antequera, T., Andres, A. I., Petron, M. J., & Muriel, E. (2004). Improvement of a solid phase extraction method for analysis of lipid fractions in muscle foods. *Analtical Chimica Acta*, 520: 201–205.

Sakata. R., Nagata, Y. (1992). Heme pigment content in meat as affected by the addition of curing agents. *Meat Science*, 32: 343-350.

Sakata, R., Oshida, T., Morita, H., & Nagata,Y. (1995). Physico-chemical and processing quality of porcine M. longissimus dorsi frozen at different temperatures. *Meat Science*, 39: 277-284.

Salgado, F., & Estévez, E. (2009). Irradiación de carne molida de res destinada para la elaboración de hamburguesas para determinar los beneficios técnicos y económicos del proceso. <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/5538>

Salgado, B., Gómez, G. P., & JH Restrepo Flores, C. E. (2013). Efecto de la cadena de frío sobre el crecimiento de bacterias ácido-lácticas, la calidad fisicoquímica y la alteración de jamones cocidos lonchados empacados al vacío. *Revista Lasallista de Investigación*, pp. 9.

Salih A, M., Smith, D.M., Price, J.F., y Dawson, L.E., (1987). Modified Extraction 2-thiobarbituric Acid Method for Measuring Lipid Oxidation in Poultry *Poultry Science*. 66: 1483-1489.

Salih, A.M., Smith, D.M., Price, J.F., Dawson, L.E. (1987). Modified extraction 2-thiobarbituric acid and method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poultry Science*, 66: 19-27.

Sánchez, A.T. (2007). Productos cárnicos emulsionados bajos en grasa y sodio. *Nacameh*, 1: 53:66.

Sandler, S.R., Karo, W. (1992). Source Book of Advances Organic Laboratory Preparations; Academic Press: San Diego.

Scallan, E., Hoekstra, R.N., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.A., Roy, S.L., Jones, J.L., Griffin, P.M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17: 1338-1340.

Scheutz, F., Strockbine, N. (2005). Genus I. Escherichia. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2: 607-623.

Signorini, M. (2007). Microbiología de carnes envasadas al vacío y la biopreservación como medio para prolongar la vida de anaquel. *Nacameh*, 1: 26-40.

Simonin, H., Duranton, F., De Lamballerie, M. (2012). New insights into the high pressure processing of meat and meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11: 285-306.

Sørensen, G. & Jørgensen, S.S. (1996). A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. *Zeitschrift fur Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 202: 205-210.

Stiles, M.E. (1996). Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70: 331-345.

Swaminathan, B., Gerner-Smidt, P. (2007). The epidemiology of human listeriosis. *Microbes Infect*, 9: 1236-1243.

Sofos, N.F., Busta, F., Allen, C.E. (1979). Sodium nitrite and sorbic effects on *Clostridium botulinum* spore germination and total microbial growth in chicken frankfurters emulsions during temperature abuse. *Applied and Environmental Microbiology*, 37: 1103-1109.

Tassou, C.C., Galiatsatos, P., Samaras, F.J., Mallidis, C.G. (2007). Inactivation kinetics of a piezotolerant *Staphylococcus aureus* isolated from high pressure treated sliced ham by high pressure in buffer and in ham model systems.

Evaluation in selective and non-selective médium Innovative Food Science & Emerging Technologies Pages 478-484.

Téllez, S. (2010). Los biofilms y su repercusión en la industria alimentaria. *VISAVET Outreach Journal*. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE.

Terry, A., Curtis, E. Pantle, R., Penny, S.A. (2003). Boundaries for Biofilm Formation: Humidity and Temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 5006-5010.

Vázquez-Boland, J.A., Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T., Domínguez-Bernal, G., González Zorn, B., Wehland, J., Kreft, J. (2001). *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clinical Microbiology Reviews*, 14: 584-640.

Wang, C.Y., Hsu, C.P., Huang, H.W., Yang, B.B. (2013). The relationship between inactivation and morphological damage of *Salmonella enterica* treated by high hydrostatic pressure. *Food Research International*, 54: 1482-1487.

Walti-Chanes, J., Gallardo, C., & García, R. G. (2015). Innovación en el desarrollo y mejora de productos cárnicos a través del uso de altas presiones hidrostáticas. *Nacameh*, 9: 19-53.