Universitat Autònoma de Barcelona

Facultat de Veterinària

Departament de Ciència Animal i dels Aliments

SALES NITRIFICANTES EN PRODUCTOS CÁRNICOS COCIDOS: EFECTIVIDAD EN FUNCIÓN DE LOS PARÁMETROS DE PROCESO

Trabajo presentado para la superación de los 15 créditos del Módulo Trabajo Fin de Máster del Máster Oficial en Calidad de Alimentos de Origen Animal

Autora: Miryan Yuquilema Malan
Directora: Dra. Montserrat Mor-Mur Francesch
Bellatera (Cerdanyola del Valles), Noviembre de 2020

Declaro ser autor de este Trabajo Fin de Máster que se presenta para obtener el grado de Maestría en Calidad de Alimentos de Origen Animal en la Universidad Autónoma de Barcelona, España. Este trabajo no ha sido presentado antes para obtener ninguno grado o examen en cualquier otra universidad.

MIRYAN LUZMILA YUQUILEMA MALAN - DNI Y7462821W

Firmado digitalmente por MIRYAN LUZMILA YUQUILEMA MALAN - DNI Y7462821W
Fecha: 2020.11.27 16:37:14 +01'00'

Miryan Yuquilema Malan.

Bellaterra, 18 de noviembre de 2020

Montserrat Mor-Mur Francesch.

INFORMA

Que el trabajo titulado: **"***Sales nitrificantes en productos cárnicos cocidos: efectividad en función de los parámetros de proceso"* ha sido realizado bajo mi supervisión por la Sra. Miryan Yuquilema Malan dentro del módulo Trabajo Fin de Máster del Máster Oficial de Calidad de Alimentos de Origen Animal de la Universitat Autònoma de Barcelona.

MONTSERRAT MOR-MUR FRANCESCH - DNI 40291939X

Firmado digitalmente por MONTSERRAT MOR-MUR FRANCESCH - DNI 40291939X
Fecha: 2020.11.18 11:10:32 +01'00'

Bellaterra, 18 de noviembre de 2020

Agradecimientos

A Dios por sus todas sus bendiciones.

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a la Dra. Montserrat Mor-Mur Francesch, que hizo posible este proyecto. Gracias por la paciencia, el apoyo, la comprensión y los consejos en la elaboración de este trabajo, que sin duda ha sido fundamental.

Mamá…Tus esfuerzos son impresionantes y tu amor para mí es invaluable, junto con mi padre me has educado, me has proporcionado todo y cada cosa que he necesitado. Tus enseñanzas las aplico cada día de verdad tengo mucho por agradecerte, a ti te lo debo todo.

Dedico este trabajo a mi Madre, Gracias simplemente, profundamente y repetidamente GRACIAS!!!🖤

ÍNDICE

RESUMEN 1
ABSTRACT 2
1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS 3
1.1. Objetivos de la investigación 4
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 6
2.1. Aditivos principales en productos cárnicos cocidos y su interacción con los nitritos 6
2.2. Efectos de la maceración y del procesado térmico 8
2.3. Desarrollo del color 10
2.4. Desarrollo del flavor 12
2.5. Beneficios y riesgos del uso de nitrito de sodio en productos cárnicos cocidos 12
2.6. Protocolos de seguridad alimentaria en productos cárnicos cocidos 15
3. MATERIALES Y MÉTODOS 17
3.1. Materia prima y aditivos 17
3.2. Formulación y preparación del jamón 17
3.3. Análisis de parámetros físico-químicos del jamón cocido 18
3.4. Análisis Estadístico 19
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 20
4.1. Análisis de color 20
4.2. Análisis de pH y aw 24
CONCLUSIONES 26
REFERENCIAS 27

RESUMEN

Las sales nitrificantes son aditivos importantes para el desarrollo del color y el sabor curado, la supresión del crecimiento microbiano y la inhibición de la oxidación en productos cárnicos. Se llevó a cabo una revisión bibliográfica sobre diversos aspectos importantes del uso de dichas sales en la actualidad. Asimismo, se elaboró un modelo de jamón cocido a escala de laboratorio y el ensayo contempló tres variables: concentración de nitritos (0-30-60 ppm), días de maceración en frío antes de la cocción (1-3-7) y tiempo de conservación en frío durante la vida útil (0 a 5 meses). Se determinaron los valores de pH, actividad de agua y color CIE (L* a* b*).

El análisis estadístico de los valores de jamón después de la cocción reveló que las concentraciones de NO_2^- sólo afectaron significativamente a los parámetros de a* y b* pero no a L*, mientras que el tiempo de maceración en frío sí afectó significativamente a los tres parámetros de color. El parámetro a* aumentó significativamente con 30 ppm de nitrito pero no al doblar la cantidad de aditivo, mientras que b* disminuyó según aumentaba la concentración de nitritos. Después de 1 mes de conservación, la concentración de nitritos afectó significativamente a todos los parámetros de color, mientras que los días de maceración sólo afectaron a los parámetros a* y b* que se comportaron de modo similar a lo observado inmediatamente después de la cocción. La actividad del agua disminuyó después de la maceración y cocción y el pH aumentó.

Palabras clave: jamón cocido, NO_2^-, tiempo de maceración, tiempo de conservación, pH, actividad de agua, color.

ABSTRACT

Nitrifying salts are important additives for the development of color and cured flavor, the suppression of microbial growth and the inhibition of oxidation in meat products. A bibliographic review was conducted on several important aspects of the current use of these salts. In addition, a model of cooked ham was developed at laboratory scale and the test considered three variables: concentration of nitrites (0-30-60 ppm), days of cold maceration before cooking (1-3-7) and cold storage time during shelf life (0-5 months). The values of pH, water activity and CIE color (L* a* b*) were determined.

The statistical analysis of the ham values after cooking revealed that the NO_2^- concentrations only significantly affected the a* and b* parameters but not L*, while the cold maceration time did significantly affect all three color parameters. The a* parameter increased significantly with 30 ppm of nitrite but not by doubling the amount of additive, while b* decreased as the nitrite concentration increased. After 1 month of storage, the nitrite concentration significantly affected all color parameters, while the maceration days only affected the a* and b* parameters which behaved similarly to those observed immediately after cooking. The water activity decreased after maceration and cooking and the pH increased.

Key words: cooked ham, NO_2^-, maceration time, conservation time, pH, water activity, color.

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La carne es una materia prima ideal para el crecimiento y desarrollo de microorganismos, por ello es necesario el uso de métodos eficaces para su conservación y/o transformación. Por una parte, el hombre desde la antigüedad ha utilizado la sal común (cloruro sódico) como método de conservación de carne, ya que ralentiza el deterioro microbiano y los procesos de degradación bioquímica gracias a la disminución de la actividad de agua que provoca. Por otra parte, en algunas regiones se observó que el proceso de salado de la carne ayudaba a desarrollar un color rosado deseable y un sabor especial en la carne tratada. Ya en el siglo XX se determinó que el responsable de este efecto del curado era el nitrito producido por la reducción microbiana del nitrato, que generalmente en forma de sal sódica se encontraba como impureza en las salinas de la que se extraía la sal (Shahidi & Samaranayaka, 2014).

Así pues, uno de los métodos de transformación y conservación de la carne es el curado mediante la adición de sales nitrificantes que de forma empírica se viene utilizando tradicionalmente desde la antigüedad para inhibir el crecimiento y desarrollo de microrganismos patógenos causantes de alteraciones en la salud del consumidor. Los nitritos consiguen la formación y estabilidad de color, contribuyen al desarrollo de su flavor típico a curado, ejercen una acción antioxidante, y sin duda su función más importante es la acción antimicrobiana que garantiza la seguridad alimentaria (Jacint Arnau et al., 2013).

Utilización de sales nitrificantes en la industria cárnica

La industria cárnica ha sabido beneficiarse enormemente del uso de aditivos especialmente del nitrito de sodio, para producir y elaborar una gran variedad de productos con colores, texturas y sabores únicos, mejorando y garantizando la inocuidad y calidad de los productos (Sindelar & Milkowski, 2012). Se ha descrito la actividad bactericida o bacteriostática de los nitritos frente a diversos microorganismos aeróbicos y anaeróbicos pero siempre se hace especial hincapié en la posibilidad de destruir esporas y células vegetativas de *Clostridium botulinum* (Fernández, 2015). En la actualidad, los nitritos y nitratos son aditivos alimentarios autorizados en Europa según el Reglamento 1129/2011 en el que se establece la lista de aditivos y concentraciones autorizadas según el tipo de producto cárnico (European Commission, 2011).

Para la elaboración de derivados cocidos, el método moderno de curado más utilizado se denomina curado con salmuera que se logra disolviendo diferentes concentraciones de sal (NaCl) y sales nitrificantes (nitritos, en forma de sal sódica o sal potásica) en agua. Un nivel

aceptable de sal es del 2 % en jamones y debe tenerse en cuenta que su reducción en exceso puede disminuir el porcentaje de proteínas miofibrilares solubilizadas y por lo tanto afectar negativamente las características organolépticas del producto final. Según el protocolo de seguridad alimentaria del Ministerio de Consumo de España el mercado de productos alimentarios debe cumplir con las normas de la legislación vigente y proteger la salud de los consumidores (BOE, 2002).

Las industrias españolas se comprometen a emplear cantidades alternativas de nitritos a fin de garantizar la seguridad alimentaria de los consumidores, además, cabe resaltar que el uso de las tecnologías ha permitido reducir la cantidad de nitritos en los productos cárnicos con el objetivo de mejorar su calidad (Gorriti & París, 2017). Según el fabricante que decide la fórmula final, también se incorporan otros aditivos como complementos tales como edulcorante, ascorbatos, lactato, fosfatos / polifosfatos y condimentos (Lonergan & Topel, 2019). Por todo ello, y en el marco de un proyecto financiado por empresas, se planteó un estudio sobre los efectos del nitrito de sodio durante la elaboración y posterior conservación del jamón cocido.

1.1. Objetivos de la investigación

El objetivo inicial del presente trabajo fue:

- Evaluar los efectos del nitrito de sodio en diversos parámetros físico-químicos de productos cárnicos cocidos en función de los parámetros de proceso**.**

Por ello, los objetivos específicos fueron:

a) Poner a punto el sistema de elaboración, a escala de laboratorio, de productos tipo jamón cocido, incluyendo las variables:
   - Concentración de nitrito
   - Tiempo de reposo en frío tras la adición de la salmuera y previo a la cocción
   - Tiempo de conservación en frío tras la cocción

b) Determinar los parámetros de calidad siguientes, en diversos momentos de la elaboración y conservación:
   - Concentración de nitratos y nitritos
   - Color
   - pH

- Actividad d agua

Debido a la emergencia sanitaria, una gran parte de las determinaciones no pudieron llevarse a cabo, de modo que en las siguientes páginas en primer lugar se presenta una revisión bibliográfica más extensa sobre factores que condicionan la efectividad de las sales nitrificantes en los productos cárnicos cocidos y a continuación el planteamiento experimental que se había realizado y los resultados obtenidos previamente al confinamiento.

NOTA: En el presente trabajo se utiliza el término "curado de carne" para hablar de la adición de sales de nitrato y/o nitrito como donadoras de óxido de nitrógeno, al ser la acepción más comúnmente empleada en los tratados de ciencia de la carne (Flores & Toldrá, 2021).

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Como se ha indicado anteriormente, las sales de nitrito de sodio y potasio se usan comúnmente en las mezclas de curado para desarrollar y fijar el color de la carne, inhibir el crecimiento microbiano y/o desarrollar sabores característicos de los productos cárnicos cocidos (Mortensen et al., 2017).

El uso de las sales de nitrito para el curado de la carne es una metodología ancestral indirecta ya que eran impurezas de la sal empleada para conservar los productos cárnicos, que luego demostró influenciar en el desarrollo del color y sabor singular del producto en salmuera. Además, "el nitrato de sodio y potasio en estas sales fue convertido en nitrito por bacterias naturales" (Krause & Honeyman, 2003, p. 507). Así pues, se puede afirmar que el nitrito es un ingrediente esencial que permite generar las condiciones ideales para la carne curada.

El parámetro principal que afecta a la cinética de los nitritos es el pH ya que al disminuir éste se favorecen las reacciones de reducción. Así pues se incluye en el papel tan determinante y global que ejerce el pH como señala (Tocra, 2015): "el pH de la carne tiene gran importancia ya que influye sobre las características de color, terneza, sabor, capacidad de retención de agua y conservación, afectando por lo tanto a las propiedades organolépticas de la carne" (p.33).

El consumo diario de jamón cocido es muy común en los países europeos, considerado uno de los productos más populares dentro del mercado de carnes procesadas. La calidad del jamón cocido depende de diversos factores como: el tipo y pieza de carne, la composición y cantidad de salmuera, la tasa de volteo o masaje y el tiempo de maceración en frío, y el tiempo y temperatura de cocción (Válková et al., 2007).

2.1. Aditivos principales en productos cárnicos cocidos y su interacción con los nitritos

<u>Cloruro de sodio</u>

Las sal y los fosfatos se utilizan en formulaciones de carne procesada para aumentar la retención de agua; aunque los fosfatos también inhiben algunos efectos pro-oxidativos de la sal (Offer & Trinick, 1983).

La adición de NaCl, no solo contribuye a potenciar el sabor en los productos cárnicos, sino que tiene un gran papel tecnológico ya que solubiliza las proteínas miofibrilares (extracción de proteínas), mejora la hidratación y la capacidad de retención de agua, y, por lo tanto, aumenta el rendimiento de cocción del producto y la jugosidad (Inguglia et al., 2017).

La sal transforma la estructura miofibrilar dentro del músculo, permitiendo que los miofilamentos se hinchen y solubilicen (Ruusunen & Puolanne, 2005). Si hay aumento de la concentración de sodio aumenta la extracción de proteínas, que se activan por su fuerte unión a los iones de cloruro (Desmond, 2006). El aumento de la concentración de sal provoca aumento de la fuerza iónica que a su vez también puede causar un color de superficie más oscuro, con valores de pH elevados debido a la gran retención de agua y menor penetración de oxígeno (Baublits et al., 2004). Por estas razones si se reduce la cantidad de sodio habrá un aumento de pérdida de peso al cocinar y afectará negativamente la calidad (Bombrun et al., 2014). Sin embargo, se ha demostrado que es posible reducir el 25 % sin afectar las características de los productos. En los jamones cocidos es posible reducir el contenido de sal al 1,7% de NaCl (Ruusunen et al., 2001). En ocasiones se sustituye la sal total o parcialmente por cloruro de potasio o de magnesio. Estas sales afectan negativamente a las características de textura y retención de agua del jamón así como al sabor (Pietrasik & Gaudette, 2014), de modo que puede ser necesario incorporar saborizantes a las fórmulas de las salmueras.

Los efectos antimicrobianos de la sal se basan en su capacidad para reducir la actividad del agua ya que el efecto de la sal sobre los microorganismos va a depender de la cantidad de sal presente en la fase acuosa de los alimentos. Al agregar iones de sodio a los medios se produce un flujo de agua a través de la membrana semipermeable de las bacterias; la pérdida de agua de la célula implica un choque osmótico que provoca lesiones graves o muerte de las células bacterianas, dando así como resultado una reducción significativa del crecimiento bacteriano en el producto cárnico (Shelef & Seiter, 2005). Sin embargo, si se deseara inhibir el crecimiento bacteriano únicamente por la concentración de sal en la fase acuosa, ésta debería ser lo suficientemente alta para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos sensibles a la sal como *Clostridium botulinum* y *Listeria monocytogenes* (Matthews & Strong, 2005), y los derivados serían incomestibles por exceso de sal.

Fosfatos

Los polifosfatos se utilizan como emulsionantes y para los productos cocidos se eligen los de reacción básica, es decir inducen aumento del pH de la matriz cárnica que mejora la capacidad de retención de agua y por tanto el rendimiento del producto. Este efecto sobre el pH de la matriz explica su efecto sobre el agotamiento de los nitritos. Ya en 1969, Nordin encontró más nitrito residual cuando se añadieron más fosfatos (Steen et al., 2020).

Los polifosfatos tienen un efecto supresor sobre el crecimiento de bacterias especialmente en grampositivas; también son efectivas en bacterias gramnegativas (como *S.*

Typhimurium *y E. coli*) y levaduras (Moon & Lee, 2014). Pueden inhibir el crecimiento microbiano formando complejos con iones metálicos que son necesarios para la división celular y reduciendo el pH, alterando la integridad de la pared celular y finalmente aumentando el estrés oxidativo (Tenderis & Şimşek, 2020).

Si el nivel de fosfatos en la salmuera es demasiado alto o si la concentración de sal es demasiado alta, los fosfatos pueden precipitar reduciendo así su eficacia; es por eso, que las proporciones de fosfato y sal agregados a la salmuera deben controlarse adecuadamente; otro problema que también pueden causar los fosfatos es la formación de cristales de fosfato disódico en la superficie de los productos curados debido a la pérdida de humedad durante el procesamiento y almacenamiento de productos cárnicos curados cocidos (Du & Sun, 2006).

Ácido Ascórbico

El ácido ascórbico, por su actividad antioxidante, es muy eficaz para aumentar la vida útil y estabilizar el color de los productos cárnicos; también promueve o inhibe las reacciones de oxidación de lípidos en los productos cárnicos, según su concentración. El ácido ascórbico actúa de forma sinérgica cuando se usa en combinación con otros antioxidantes (Redondo-Solano et al., 2013).

El ascorbato (preferido frente al ácido ascórbico) también se usa como un acelerador de curado, que funciona reduciendo Fe^{3+} a Fe^{2+}. Además, el ascorbato reacciona con el ácido nitroso (la forma protonada del ion nitrito) para formar NO (Honikel, 2008). Su función principal es reducir la metamioglobina a mioglobina, acelerando así la reacción del curado en general. En condiciones adecuadas el ascorbato también ayuda en la producción de NO a partir de nitrito o sus derivados en la mezcla de curado. Por este mismo motivo ejerce un papel en el desarrollo del color.

2.2. Efectos de la maceración y del procesado térmico

Una vez que se han añadido los aditivos a la carne, se deja macerar durante un tiempo (entre 24 horas y hasta 7 días en algunos jamones comerciales de alta gama). Este proceso se complementa con el volteo de la carne, tratamiento mecánico que causa disrupción celular del tejido de la carne (Steen et al., 2020). Esta alteración de la estructura promueve la migración de la sal y nitrito en la carne, por lo tanto ayuda a favorecer una distribución más uniforme de la salmuera. No se han encontrado estudios en la bibliografía que evalúen la cinética de los nitritos en función del tiempo de maceración, a pesar de ser una variable muy presente en la industria y por este motivo se incluyó en el presente estudio.

El control de la temperatura es muy importante durante la cocción puesto que marca un punto clave en la calidad y apariencia de los productos cárnicos. La alta temperatura de cocción puede disminuir el tiempo necesario para el proceso, pero disminuye la calidad de la textura, además, "el aumento de las temperaturas finales se asoció con una mayor pérdida de cocción, granulosidad, concentración de lípidos, proteínas y ciertos ácidos grasos, así como disminución de la jugosidad, el color rosado y el sabor metálico"(Cheng & Sun, 2007)El calor y posterior enfriamiento provocan la coagulación de las proteínas musculares y le dan consistencia y firmeza al producto terminado al unir los fragmentos musculares (Arnau, 2014). El cambio de temperatura durante el calentamiento induce la contracción de la estructura de la carne, causando pérdida del líquido de la carne (Bouton & Shorthose, 1976).

Los productos cárnicos pasteurizados se procesan térmicamente a valores de entre 70 y 80° C, utilizando tecnologías de calentamiento convencional con vapor o baño de agua hasta alcanzar una temperatura central de 66 – 72° C (Zhang & Brunton, 2006). Industrialmente, las piezas se tratan en el interior de bolsas de plástico que a su vez pueden o no introducirse en moldes metálicos. (Cheng & Sun, 2007), al estudiar las propiedades mecánicas del jamón cocido sin bolsas, demostraron que se produce pérdida de agua, proteínas y minerales, lo cual puede no afectar a las propiedades de textura del jamón, pero sí al color, por pérdida de pigmento. El calentamiento también provoca ligero cambio ascendente en el pH y reducción de la actividad enzimática. Estos tratamientos suaves de cocción permiten la eliminación de las formas vegetativas de los microorganismos pero no se destruyen las esporas (Palka & Wesierska, 2014).

El jamón curado es uno de los productos cárnicos más consumidos en el mundo pero "es altamente perecedero debido a su alta actividad de agua (aproximadamente 0,99), su pH casi neutro (aproximadamente 6,2) y la ausencia de microbiota competidora" (Rakotondramavo et al., 2019). Además aumentan continuamente las ventas del producto ya loncheado. Debido a que durante el proceso de loncheado está expuesto a la contaminación, los productores se ven en la obligación de extremar las medidas higiénicas (trabajo en sala blanca) y aplicar tratamientos higienizantes al finalizar el envasado. Tradicionalmente se hace una pasterización a 80 ºC y en los últimos años se recomienda el procesamiento de alta presión. (Pietrasik & Gaudette, 2014) demostraron que el uso de alta presión después de la cocción y loncheado permite alargar la vida útil de los jamones cocidos ya que no se produjeron diferencias significativas en todos los parámetros de aceptabilidad del consumidor.

2.3. Desarrollo del color

El color representa un índice de calidad del jamón que a su vez se relaciona con el estado sanitario y frescura del producto. En conjunto, la aceptabilidad del consumidor y decisión de compra no solo depende de un color atractivo y estable, sino también de otras características morfológicas como poros, agujeros, defectos y marmoleado del tejido adiposo (Du & Sun, 2006).

La hemoglobina y la mioglobina son los pigmentos naturales de la carne ya que absorben la luz en la zona de los rojos del espectro visible, variando en función de su estado químico. Como resultado, el color macroscópico de la carne es el resultado de la combinación de formas presentes de los pigmentos hemo en un momento dado. La mioglobina en la carne puede presentarse en tres estados químicos en función de la fase de oxidación del hierro y de los ligados que se unan a sus enlaces libres (Livingston & Brown, 1981):

- La Desoximioglobina corresponde a la forma en que el hierro hemo es ferroso (Fe^{2+}) y no tiene ningún otro ligando presente, dando como resultado un color rojo purpura (Mancini & Hunt, 2005).
- La Oximioglobina es la forma en que el oxígeno se encuentra ligado al átomo de hierro que se presenta en estado ferroso (Fe^{2+}) y desarrolla un color rojo cereza brillante;
- En la Metamioglobina el átomo de hierro ferroso se oxida a férrico (Fe^{3+}) y se une a una molécula de agua, desarrollando un pigmento pardo o marrón (Wittenberg & Wittenberg, 2003).

En la formación del color rojo de curado el pigmento muscular mioglobina reacciona con el óxido nítrico (NO), que se forma a partir del nitrito en medio ácido. La misma reacción se produce con la hemoglobina, el pigmento de la sangre, que se encuentra también en la materia prima junto con la mioglobina. El compuesto nitroso-mioglobina (y de forma similar el nitroso-hemoglobina) es el que da lugar al denominado “rojo curado”. Durante el proceso de calentamiento, dicho complejo se desnaturaliza y cambia del color rojo inicial al color rosado final, típico del jamón cocido y se denomina nitrosil hemocromo (Toldrá & Reig, 2016). El pigmento de la carne curada cocida es bastante estable, pero sin embargo, la exposición a la luz y oxígeno puede provocar la decoloración del producto cárnico (Shahidi et al., 2014).

Así pues, en los productos cárnicos curados el óxido nítrico (NO) generado a partir del nitrito, es el compuesto clave responsable de desarrollar un color único de carne curada (Bazan, 2008). (Ockerman, Plimpton, CahillL, & Parrett, 1978) afirman que el aumento de nivel de sal oscurece las puntuaciones de color obtenidas, tanto mediante equipos de reflectancia como en

los ensayos de un panel sensorial. Por el contrario, en otro estudio realizado por (Pietrasik & Gaudette, 2014) se comprobó que, en los tratamientos de jamón que contenían cantidades reducidas de sal fueron más claros, más amarillos y menos rojos en comparación con los jamones que contenían 2% de sal o sustitutos de sal marina.

Además, la formación de óxido nítrico a partir de nitrito y la reacción de aquél con el pigmento muscular se ve afectada por factores como la temperatura, pH, oxígeno y sustancias reductoras, contenido de agua y otros aditivos (Feiner, 2006).

Puesto que la disminución de nitrito en las fórmulas de las salmueras puede comprometer el color de los productos recién cocidos y/o su estabilidad durante el almacenamiento en frío, es interesante el estudio de (Dineen et al., 2000): "Niveles reducidos de nitrito y suplementación dietética con acetato de α-tocoferol: efectos sobre el color y la estabilidad oxidativa de los jamones cocidos". El objetivo del estudio fue determinar los efectos de la suplementación con vitamina E en la dieta de los animales y la reducción de los niveles de nitrito sobre la estabilidad del color de los jamones cocidos. Ensayaron dos niveles de nitrito (25 y 100 mg / kg de carne) y los jamones se cortaron en rodajas y se envolvieron en una película altamente permeable al oxígeno durante un período de almacenamiento de 10 días en refrigeración. Las concentraciones de α-tocoferol fueron significativamente ($P < 0{,}001$) mayores en los músculos de animales suplementados. Si bien los músculos curados con 100 ppm de nitrito formaron productos con valores de 'a*' significativamente ($P < 0{,}001$) más altos que los curados con el nivel de nitrito más bajo (25 ppm) en jamones sin vit E, los jamones con 25 ppm de nitrito elaborados a partir de músculos provenientes de animales suplementados, mostraron valores de 'a*' significativamente ($P < 0{,}05$) más altos que los jamones elaborados a partir de músculos control elaborados con 100 ppm de nitrito.

La legislación europea no permite el aporte de nitratos a los productos cocidos aunque sí la de otros países. En este sentido es interesante el trabajo de (Waga & Sakata, 2017) acerca del "Efecto del nitrato sobre la tasa de descomposición de nitrito residual en cerdo curado cocido" donde examinaron los efectos del nitrato sobre la estabilidad del color en los productos de cerdo curados cocidos. Encontraron que el nitrato inhibió la disminución y decoloración del nitrito en el jamón, afirmando que la tasa de degradación del nitrito disminuía con el contenido de ácido nítrico y concluyendo que el nitrato inhibe la reducción de nitrito en los productos cárnicos cocidos prolongando la estabilidad del color.

2.4. Desarrollo del flavor

El desarrollo del sabor y aroma de las carnes curadas es muy complejo, pues es el resultado de la actividad microbiana, de las enzimas propias de la carne, de los ingredientes utilizados y de fenómenos puramente químicos como la oxidación lipídica y las reacciones del nitrito (Arnau et al., 2013). La hidrólisis de las proteínas y de los lípidos son fenómenos enzimáticos responsables de la generación de los compuestos organolépticos que influyen sobre el sabor y aroma durante el proceso de curado del jamón (Sebranek & Bacus, 2007). (Tocra, 2015) afirma que:

> "El sabor en el jamón curado se asocia principalmente con los compuestos no volátiles como los aminoácidos libres y los péptidos pequeños que se acumulan al final del proceso de curado, mientras que el aroma se asocia con la generación de compuestos volátiles (p.51)".

Parece ser que algunos de los compuestos volátiles que contribuyen al aroma "a curado" se originan a partir de la reacción de sustancias propias de la carne con el nitrito o con el NO. Es el caso de nitrilos, como el benzonitrilo y el fenilacetonitrilo, que han sido identificados en productos curados sometidos a tratamiento térmico (Fernández, 2015). Cabe resaltar que el contenido de cloruro sódico del jamón curado también incide en su textura y su sabor. Por lo tanto, ya que la sal es un compuesto químico que permite el proceso de maduración del jamón curado, es importante adecuar las condiciones y cantidades de la sal (Gorriti & Parí, 2017). La adición de sal mejora el sabor de los productos cárnicos y afecta las características funcionales del producto como la capacidad de retención de agua, la unión del producto, la textura del producto y el crecimiento de bacterias (Armenteros, 2010).

Por otro lado, (Pietrasik & Johnston, 2016) manifiestan que "los productos cárnicos elaborados sin nitrito añadido también pueden ser susceptibles a problemas de seguridad, así como al desarrollo de atributos sensoriales negativos" (p.102). Así pues, puede hablarse de una participación directa e indirecta de los nitratos y nitritos en el sabor y aroma de las carnes curadas.

2.5. Beneficios y riesgos del uso de nitrito de sodio en productos cárnicos cocidos

Los consumidores cada vez se vuelven más exigentes a la hora de seleccionar productos para su alimentación que vayan de acuerdo a sus necesidades (Carvalho et al., 2019). Por lo tanto, las industrias cárnicas se ven muy limitadas al momento de usar aditivos sintéticos, pero

sin embargo, es imposible producir sin aditivos, ya que la carne es un producto de fácil descomposición (Domínguez et al., 2019).

Durante los últimos cincuenta años, el uso de nitrito ha sido muy cuestionado a pesar de sus efectos positivos en el proceso tecnológico, a raíz de la demostración que el uso de estos aditivos conlleva la formación de N-nitrosaminas. De tal manera, "existe una gran preocupación con respecto al papel de estos aditivos en la formación de nitrosaminas, cuyos efectos carcinógenos, mutagénicos y teratogénicos están bien documentados" (Fernández, 2015). Pero debe destacarse que la formación de nitrosaminas se puede dar sólo en condiciones especiales donde hay aminas secundarias, si el nitrito está disponible para reaccionar, si encuentra un pH bajo y si las temperaturas alcanzan más de 130° C, como por ejemplo, durante la fritura de tocino (Sindelar & Milkowski, 2012). Además, se ha demostrado que los ascorbatos y eritorbatos, siempre presentes en las fórmulas de las salmueras como ya se ha indicado, bloquean la formación de N-nitrosaminas (Shahidi et al., 2014).

En contrapartida, en los últimos veinte años se ha avanzado mucho en el conocimiento del papel del óxido nítrico en el metabolismo de los humanos y se ha demostrado que "cumple un papel fisiológico al ejercer un efecto protector frente a daños cardiovasculares y gastrointestinales" (Gallego, 2013, p.11). Se ha comprobado que el óxido nítrico (NO) puede ser beneficioso para la salud y además se ha puesto en entredicho la validez de algunos estudios sobre la carcinogénesis de los nitritos y se insta a revisar las hipótesis de partida y llevar a cabo nuevos estudios (Archer, 2002); (Szaciłowski & Stasicka, 2005); (Habermeyer et al., 2014); (Bedale & Milkowski, 2016); (Crowe & Green, 2019).

En las últimas décadas se ha descubierto que el óxido nítrico obtenido a partir de la reducción de nitrito es un potente vasodilatador y se sabe que los S-nitrosotioles modulan la función plaquetaria. Estas dos funciones se unen para mejorar la función cardiovascular, a través de una disminución de la presión arterial entre otros importantes beneficios terapéuticos (Sindelar & Milkowski, 2011). Por lo tanto es posible que haya que considerar a los nitratos como compuestos con efectos diversos; posibles tóxicos debido a la formación de nitrosaminas, algunos necesarios como aditivos tecnológicos y, otros, recomendables como micronutrientes esenciales. Es por eso que no parece absurdo pensar que en un futuro se considere esta última propiedad de los nitratos como deseable para la salud y por ende como aditivo recomendable (Lundberg et al., 2011).

Impacto en la seguridad microbiológica

La baja concentración de nitrito en el curado de productos cárnicos causa preocupación con respecto a la inocuidad de los productos cárnicos debido a los riesgos microbiológicos. Los patógenos importantes, y que en diferente medida son inhibidos por los nitritos, son *Escherichia coli, Salmonella spp, Listeria monocytogenes, Clostridium botulinum* y *Clostridium perfingens* (Krause et al., 2003).

Por ello, el efecto de conservación o bactericida del NO^{2-} en los productos cárnicos es el fundamento más importante y de mayor peso para su empleo y las dosis aceptadas se basan fundamentalmente en las necesarias para inhibir *C. botulinum.* Con una concentración de 80-150 ppm se inhibe selectivamente la germinación de las esporas de *Clostridium botulinum*, pero esta acción se presenta en combinación con otras condiciones como pueden ser pH (cuanto más bajo, tanto mayor es el efecto inhibidor y viceversa), concentración de sal, actividad de agua (aw), temperatura. Por sí solo la cantidad de nitrito necesaria para que resulte efectivo aumenta. Además, cuando un producto cárnico al que se le ha añadido NO^{2-} sufre la acción del calor, el efecto inhibidor sobre *Clostridium botulinum* se multiplica por 10. Esta potenciación de la actuación del NO^{2-} por la cocción, recibe el nombre de "Factor Perigo" (Perez, 2005).

Las concentraciones necesarias para una adecuada protección botulínica son mayores que aquellas necesarias para desarrollar el color y sabor. La actividad antibotulínica se incrementa con la concentración residual del nitrito; la sal en estado oxidado, el nitrato, no es indispensable para la estabilidad del producto y probablemente sólo es útil como fuente de nitrito (Martín, 2005).

Por otra parte, los procesos térmicos convencionales para productos cárnicos especialmente los de gran tamaño como el jamón son un riesgo importante de *C. perfringens*, cuyas esporas pueden germinar, crecer y multiplicarse rápidamente hasta niveles infecciosos durante el enfriamiento de los productos cocidos (Amézquita et al., 2005). Por tanto, la rapidez y el grado de enfriamiento después de la cocción son procesos clave para prevenir enfermedades transmitidas por alimentos causadas por este patógeno si las dosis de nitrito no son suficientes.

Finalmente, *L. monocytogenes* es un problema de seguridad importante ya que es un organismo ubicuo que puede llegar al producto de diversas formas y puede sobrevivir en biofilms, logrando una gran persistencia en los ambientes de procesamiento, además de ser psicrótrofo y poder alcanzar niveles peligrosos durante el almacenamiento en frío (Chaitiemwong et al., 2014). Debido a que el jamón cocido es un producto listo para consumo,

tiene un tiempo de vida útil relativamente larga y se puedan consumir sin calentar, *L. monocytogenes* es el objetivo principal cuando se aplica una tratamiento de higienización en elaborados sin nitrito o con cantidades reducidas de los mismos (Bover-Cid et al, 2019).

Alternativas al uso de nitritos sintéticos

Debido al rechazo de los nitritos sintéticos, en la actualidad existen diferentes propuestas alternativas mediante uso de extractos vegetales naturalmente ricos en nitratos. (Flores y Toldrá, 2021). La inocuidad alimentaria de dichos extractos será la misma que cuando se añaden aditivos sintéticos si las cantidades reales de nitrito aportadas por los vegetales son similares (Bedale et al., 2016). Ya que en el tiempo de procesado de jamón cocido no habría suficiente reducción a nitrito, predominan los ensayos en que se emplean extractos previamente fermentados. Un ejemplo es el trabajo de Krause, Sebranek, Rust y Honeyman (2003) que destacamos al dedicar una parte importante del mismo al efecto sobre el color. Compararon jamones elaborados con nitrito con otros en cuya salmuera adicionaron jugo de vegetales en polvo (VJP) que incubaron con un cultivo iniciador de *Staphylococcus carnosus.* El jamón control fue significativamente más rojo después de 42 días de almacenamiento, que cualquiera de los tratamientos VJP. La concentración de nitrito residual fue significativamente mayor en los jamones control durante la primera semana de almacenamiento. Finalmente concluyeron que organolépticamente los dos tratamientos no diferían entre sí.

2.6. Protocolos de seguridad alimentaria en productos cárnicos cocidos

Tanto a nivel europeo, como dentro de España existen diferentes reglamentos y normativas que regulan el procesado y almacenamiento del jamón curado con el objetivo de garantizar la seguridad alimentaria de los consumidores.

Reglamentos europeos:

- Reglamento (CE) 853/2004, de 29 de Abril de 2004, del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal destinados al consumo humano.
- Reglamento (CE) 2073/2005, de 15 de Noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, publicado en el DOCE L 338 DE 22.12.2005.
- Reglamento (CE) 2075/2005, de 5 de Diciembre de 2005, por el que se establecen normas específicas para los controles oficiales de la presencia de triquinas en la carne, publicado en el doce l 338 de 22.12.2005.

- Reglamento 1882/2006, de 19 de Diciembre de 2006, de la Comisión, por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de nitratos en ciertos productos alimenticios.
- Reglamento (CE)1333/2008, del 16 de diciembre del 2008, del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se establecen normas específicas para el tratamiento de productos cárnicos curados:
  - 08.3.4 Productos cárnicos tradicionales curados con disposiciones específicas para nitritos y nitratos.
  - 08.3.4.1 Productos tradicionales que se sumergen en una solución de curado (productos cárnicos curados por inmersión en una solución de curado que contiene nitritos y/o nitratos, sal y otros componentes).
  - 08.3.4.2 Productos tradicionales curados en seco (el procedimiento de curado en seco supone la aplicación en seco a la superficie de la carne de una mezcla de curado que contiene nitratos y/o nitritos, sal y otros componentes, seguido de un período de estabilización o maduración).
  - 08.3.4.3 Otros productos curados por métodos tradicionales (procesos de inmersión y curado en seco utilizados conjuntamente, o inclusión de nitritos y/o nitratos en un producto compuesto, o inyección de la solución de curado en el producto antes de cocinarlo).
- Reglamento 1129/2011, de 11 de noviembre de 2011, de la Comisión, por el que se modifica el anexo II del Reglamento 1333/2008 del parlamento Europeo y del Consejo para establecer una lista de aditivos alimentarios de la Unión.

Decreto Español

- Real Decreto 474/2014, de 13 de junio, por el que se aprueba la norma de calidad de derivados cárnicos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materia prima y aditivos

Las piezas de carne seleccionadas para la producción de jamón cocido procedían de cuartos traseros de cerdo, con un tiempo post-morten entre 72 y 96 horas, suministradas por un elaborador industrial. En la sala de despiece, los jamones habían sido preparados en formato 6D, nomenclatura comercial indicadora de haber realizado el máximo pulido posible para eliminar grasa superficial y tejido conjuntivo adyacente. Finalmente habían sido picados en picadora industrial de 3 orificios de 4 cm de diámetro cada uno.

Los ingredientes y aditivos utilizados fueron: agua fría de red, sal común comercial, tripolifosfato de sodio (E451, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemania), ascorbato de sodio (E301, Panreac, Barcelona, España) y nitrito de sodio (E250, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemania).

Los materiales de laboratorio utilizados fueron: balanza, baño maría, film de plástico, cuchillos, máquina de vacío, y bolsas de vacío.

3.2. Formulación y preparación del jamón

El diagrama de flujo del proceso de elaboración del jamón se muestra en la Figura 1. Este proceso consta de varias etapas, que comienza con la selección de la materia prima (jamón 6D), que sea uniforme y sana. Para la elaboración de jamones se hicieron lotes de 1.500 g de carne cada uno, a los que se añadió un 20% de salmuera, preparada para dar una composición final en jamón de: 2% de sal, 0,5% de tripolifosfato de sodio, 0,05% de ascorbato de sodio y 0-30-60 ppm nitrito, como variable de formulación en el ensayo.

Al no disponer de equipo de masaje, cada lote se introdujo en bolsas grandes y se procedió a masajear a mano durante 10 minutos para facilitar la difusión de la salmuera en la carne. Dicha masa ya masajeada se subdividió en 3 porciones de 500 g que se introdujeron en bolsas que una vez selladas al vacío se colocaron en una cámara de frío para maceración durante 24 - 72 - 168 h a 4°C, como variable de proceso del ensayo. A las 24 h se volvieron a masajear durante 10 minutos los lotes de 72 y 168 h y para este último también se hizo a las 72 h

Finalizado cada tiempo de reposo se elaboraron los jamones correspondientes. La cocción se llevó a cabo en un baño maría a una temperatura de 68±1 ºC durante 3 horas y al terminar la cocción los jamones se sacaron del baño y se enfriaron en agua con hielo durante 10 minutos y a continuación se llevaron a la cámara de 4 ºC durante 24 h. De cada jamón se

hicieron 6 rodajas que servirían para hacer los análisis en cada momento de conservación en frío: una de ellas inmediatamente (día 0 después de cocción) y las otras 5, envasadas al vacío a los meses 1-2-3-4-5 meses. Estaba previsto hacer dos producciones, una que empezó el 13 de enero y de la cual sólo se pudieron hacer los análisis de los meses 0 y 1 y otra que debía empezar el 16 de marzo.

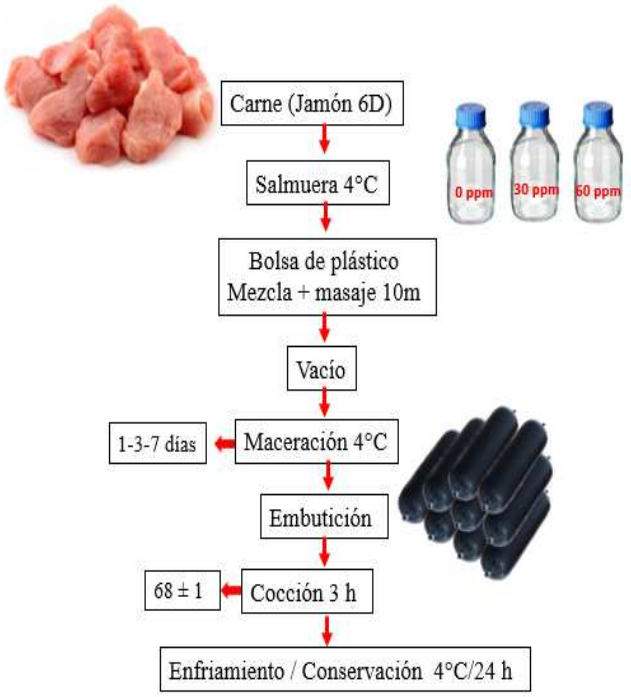

Figura N° 1. Diagrama de flujo de proceso de elaboración de jamón.

3.3. Análisis de parámetros físico-químicos del jamón cocido

Medida de color

El color instrumental se determinó mediante el colorímetro CR-400 Chroma Meter (Konica Minolta, Osaka, Japón), con iluminante D65 y observador 2ª empleando el sistema CIELab y expresándose el color mediante las coordenadas L*, a*y b*, donde L representa el índice de luminosidad (abarcando desde el valor 100 que corresponde al blanco absoluto, al valor 0 que corresponde con el negro absoluto), a* corresponde con el índice de rojos-verdes, y b* con el índice amarillos-azules. Una vez calibrado el aparato con un blanco de calibración las medidas se realizaron procurando tomar la medición en zonas homogéneas y representativas de las lonchas de jamón. Los parámetros de color se determinaron en cuatro puntos por cada

lado de la muestra (total 8). Se calculó la diferencia de color mediante la ecuación que lo define: $\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$.

Actividad de agua

La actividad de agua (a_w) se determinó usando el higrómetro Decagon AQUALAB (modelo S3/TE, Decagon Devices, Inc., Washington, USA), a 25 ºC y previamente calibrado.

pH

Se usó un medidor de pH portátil (Hanna Instruments, Eibar, España) equipado con una sonda de penetración para medir el pH de la carne. Se homogenizaron porciones de 10 gramos de cada muestra de jamón en 10 ml de agua destilada durante 2 minutos, a temperatura ambiente.

3.4. Análisis estadístico

El análisis de datos estadísticos de los resultados de color, se realizó mediante el análisis de varianza (ANOVA) y el método LSD de Fisher con un nivel de confianza de 95%. El programa estadístico utilizado fue Minitab 19.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis de color

Se tomaron los parámetros de color de la carne cruda como control de la evolución debida a la adición de los diversos ingredientes junto con los cambios provocados por el tratamiento térmico. En las Tablas 1 y 2 se muestran los valores de los jamones después de cocción y después de 1 mes de conservación en frío. Las muestras sin nitritos que solamente habían permanecido en maceración 1 día presentaban mohos después de 1 mes de conservación, de modo que se rechazaron.

Tabla 1. Parámetros de color (medias y desviación estándar; n=8) de jamón después de la cocción (mes 0).

Concentraciones	Días de maceración	L*	a*	b*
0 ppm NO_2	1	71,37 ± 1,59	3,96 ± 1,07	12,76 ± 0,88
	3	66,71 ± 8,56	6,96 ± 2,29	10,89 ± 2,01
	7	65,05 ± 4,10	7,61 ± 1,51	10,85 ± 1,10
30 ppm NO_2	1	67,91 ± 1,55	7,45 ± 1,89	10,24 ± 1,30
	3	68,13 ± 1,40	8,76 ± 1,58	9,00 ± 0,96
	7	63,43 ± 4,28	10,03 ± 1,29	9,39 ± 1,52
60 ppm NO_2	1	68,50 ± 5,33	9,09 ± 2,43	9,32 ± 0,79
	3	69,39 ± 2,46	9,86 ± 2,25	7,92 ± 1,34
	7	66,96 ± 2,18	10,29 ± 1,72	8,66 ± 0,90
CARNE CRUDA		46,62875	10,91625	7,06875

El análisis estadístico de los valores inmediatamente después de la cocción reveló que las concentraciones de NO2-, sólo afectaron significativamente a los parámetros de a* y b* pero no al parámetro L* del jamón; mientras que el tiempo de maceración en frío sí afecto significativamente a los tres parámetros de color L*, a* y b* (Tabla 3). La luminosidad (L*) y el enrojecimiento (a*) se consideran los parámetros más informativos para los cambios de color (Mielnik & Slinde, 1983).

Tabla 2. Parámetros de color (medias y desviación estándar; n=8) de jamón después de la conservación en frío (4 ºC) durante 1 mes.

Concentraciones	Días de maceración	L*	a*	b*
0 ppm NO_2	1	-	-	-
	3	67,72 ± 2,43	5,75 ± 1,70	13,58 ± 2,26
	7	67,96 ± 1,78	8,11 ± 2,24	12,30 ± 1,97
30 ppm NO_2	1	67,29 ± 1,22	8,46 ± 3,07	11,01 ± 2,64
	3	67,29 ± 1,50	8,80 ± 1,68	11,99 ± 1,68
	7	65,66 ± 2,77	9,84 ± 2,61	10,22 ± 1,63
60 ppm NO_2	1	63,79 ± 6,69	12,39 ± 2,54	8,87 ± 0,63
	3	69,04 ± 1,65	7,80 ± 2,61	11,37 ± 2,89
	7	68,90 ± 1,16	9,49 ± 1,85	9,24 ± 1,26

Tabla 3. Análisis de varianza **y R^2** para los parámetros de color**,** en función de las variables concentración 0-30-60 ppm NO_2^- y días de maceración en frio 1-3-7 días, después de la cocción (mes 0).

		PARÁMETROS DE COLOR		
Fuente	**GL**	**L***	**a***	**b***
Concentraciones	2	1,18ns	24,16*	32,71*
Días de maceración	2	6,27*	11,37*	9,35*
Concentraciones*días de maceración	4	1,36ns	1,2ns	0,6ns
R-cuad.		24,41	54,63	57,87%

ANOVA (efecto de parámetros de color) **Sig.:** Nivel de significación. * $p < 0,05$; ns: no significativo.

Se realizó un análisis de medias para los parámetros a* y b* en función de las 3 concentraciones y los 3 días de maceración (Tabla 4). Como era de esperar, debido a la formación del compuesto nitrosohemoglobina que se desnaturaliza, el parámetro a* aumenta significativamente con 30 ppm de NO2-, es decir que el jamón se torna más rojo, pero aun después de añadir el doble de NO2- estadísticamente no hay cambio significativo. Valores

Tabla 4. Comparación de medias para los parámetros de color L*, a* y b* utilizando el método LSD de Fisher y una confianza de 95%, después de la cocción. (n=24)[§]

Factores		PARAMETROS DE COLOR		
		L*	a*	b*
Concentraciones	0 ppm	-	$6,17^{y}$	$11,50^{z}$
	30 ppm	-	$8,75^{z}$	$9,54^{y}$
	60 ppm	-	$9,74^{z}$	$8,63^{x}$
Días de maceración	1	$69,26^{z}$	$6,83^{y}$	$10,77^{z}$
	3	$68,08^{z}$	$8,53^{z}$	$9,27^{y}$
	7	$65,15^{y}$	$9,31^{z}$	$9,63^{y}$

[§] Para cada variable, las medias cuya letra difiere son significativamente diferentes.

que concuerdan con los hallados por (Yun-Sang et al., 2017) en que las salchichas emulsionadas producidas con ácido ascórbico y nitrito de sodio o polvo de remolacha preconvertido tenían valores de a* más altos que los tratamientos sin ácido ascórbico. El parámetro b* se ve reducido según aumenta la concentración de nitritos. A diferencia de nuestros resultados, según (Dutra et al., 2017), cantidades más bajas de nitrito resultaron en valores L* y h mayores , que corresponden a una muestra de tono más clara y amarillenta, llegando a la conclusión de que la cantidad de nitrito añadido tiene un efecto más fuerte sobre el color.

Para los días de maceración en frio, el parámetro L* se ve afectado en el día 7 cuyo valor de luminosidad es más bajo, lo que significa que la tonalidad del jamón es opaca, hecho atribuible a una mayor extracción de proteínas miofibrilares que dan un exudado blanco lechoso. El parámetro a* sigue una pauta similar a la observada para la variable concentración y el parámetro b* presenta valores similares con 3 y 7 días de maceración y menores que con 1 día.

Para el color tras 1 mes de conservación, no se pudo hacer ANOVA completo al faltar 1 dato. En la Tabla 5 se muestran los valores en que sólo se evaluaron dos días de maceración en frío (3-7 días) y tres concentraciones 0-30-60 ppm NO_2^-. Las concentraciones afectaron significativamente a todos los parámetros de color del jamón, mientras que los días de maceración sólo a los parámetros a* y b*.

Tabla 5. Análisis de varianza **y R^2** para los parámetros de color, en función de las variables concentración 0-30-60 ppm NO_2^- y días de maceración en frío, 3 y 7, después de la conservación en frio durante 1 mes.

Fuente		PARÁMETROS DE COLOR		
	GL	L*	a*	b*
Concentraciones	2	6,51*	5,23*	7,19*
Días de maceración	1	0,81ns	7,44*	8,75*
Concentraciones*Días de maceración	2	1,02ns	0,37ns	0,18ns
R-cuad.		27,42%	30,75%	35,86%

ANOVA (efecto de parámetros de color) **Sig.:** Nivel de significación. * $p < 0,05$; ns: no significativo.

Tabla 6. Comparación de medias para los parámetros de color L*, a*, y b*, en función de las variables concentración (3 niveles) y días de maceración (2 niveles), utilizando el método LSD de Fisher y una confianza de 95%, después de 1 mes de conservación en frio[§].

Factor		PARÁMETROS DE COLOR		
		L*	a*	b*
Concentraciones (n=16)	0	$67,84^{zy}$	$6,93^{y}$	$12,94^{z}$
	30	$66,47^{y}$	$9,32^{z}$	$11,11^{y}$
	60	$68,97^{z}$	$8,64^{z}$	$10,30^{y}$
Días de maceración (n=24)	3	-	$7,45^{y}$	$12,31^{a}$
	7	-	$9,14^{z}$	$10,59^{b}$

[§]Para cada variable, las medias que no comparten letra son significativamente diferentes

Los consumidores prefieren productos de un color más claro, con menos coloración roja, es decir, con un valor más alto de L* y un a* más bajo (Válková et al., 2007). Al añadir nitritos la luminosidad aumenta significativamente. Los parámetro a* y b* se comportan de modo similar a lo observado inmediatamente después de la cocción. Son tendencias similares a las descritas por (Sebranek et al, 2011) tras 42 días de almacenamiento en frío y por (Pateiro et al., 2019) tras 21 días.

El cálculo de la diferencia de color (ΔE) permite observar fácilmente qué muestras difieren más entre ellas ya que indica la magnitud de las diferencias entre muestras teniendo en cuenta las coordenadas de color (Cava et al., 2012), por ello se compararon los jamones de 0 y 1 mes con la carne cruda y también entre ellos (Tabla 7). Como era de esperar la diferencia respecto a la carne cruda es muy marcada pero resulta interesante destacar las diferencias entre

jamones después de 1 mes de conservación, con valores que probablemente se distinguirían a simple vista. Probablemente es debido a los valores de b* mayores al mes de almacenaje. Desde el punto de vista industrial es importante poder completar el estudio como se había diseñado inicialmente pues debe comprobarse si la evolución del color durante 5 meses es aceptada o no por los consumidores.

Tabla 7. Diferencia de color (ΔE*) de jamón después de la cocción y después de conservación en frio durante 1 mes, respecto a valores de carne cruda y ΔE* de jamón después de la cocción respecto a valores de jamón conservado en frío durante 1 mes.

Concentración NO_2 (ppm)	Días de maceración	ΔE*CC	ΔE*1MC	ΔE*C1J
0	1	26,33	-	-
0	3	20,82	22,67	3,12
0	7	19,09	22,14	3,29
30	1	26,33	21,18	1,41
30	3	21,70	21,34	3,11
30	7	16,98	19,32	2,39
60	1	22,06	17,31	5,77
60	3	22,80	23,03	4,03
60	7	20,41	22,42	2,18

ΔE*CC, Jamón después de la cocción con respecto carne cruda; ΔE*1MC, Jamón conservación 1 mes con respecto carne cruda; ΔE*C1J, Jamón después de la cocción respecto a jamón 1 mes conservación

4.2. Análisis de pH y aw

El pH de la carne de partida afecta la cinética de los nitritos ya que a menor pH más rapidez en la reducción de nitrito a óxido nítrico (Honikel, 2008; Shahidi et al., 2014). Puesto que en la industria se utilizan diversos músculos recortados, en una jamón real se puede presentar una horquilla de pH de partida bastante amplia (entre 5,5 y 6,0) por lo que la evolución real es compleja de seguir. En nuestro caso se determinaron 3 valores de carne cruda: 5,57, 5,71 y 5,78.

Puesto que los fosfatos que se añaden son de reacción básica para aumentar el pH y favorecer la retención de agua, hecho ya observado por Nordin en 1969, tras la maceración con salmuera se observa aumento del pH que se incrementa tras la cocción (Tabla 8) como ya ha sido descrito (Cheng & Sun, 2007). Puesto que para el total de los lotes se utilizaron 6 kg de carne, las porciones de jamón para cada pH podían proceder de carne con valor inicial muy

variable y ya que sólo tenemos un valor para cada caso, las diferencias no se pueden atribuir a ningún factor en concreto.

Tabla 8. Valores de pH, de jamón después de cocción y después de conservación en frio durante 1 mes.

Muestra	Concentración	Dias de maceración		
		1	**3**	**7**
Jamón después de la cocción	**0 ppm NO_2**	6,02	6,03	6,09
	30 ppm NO_2	6,26	6,05	6,06
	60 ppm NO_2	6,06	6,04	6,9
Jamón 1 mes de conservación	**0 ppm NO_2**	-	6,85	6,09
	30 ppm NO_2	7,51	6,9	6,06
	60 ppm NO_2	7,19	7,02	6,9

La actividad del agua de la carne cruda fue de 0,990. Tras la maceración y cocción siempre se observa disminución de la misma ya que por una parte hay aporte de compuestos que ligan agua y además se pierde algo de agua libre (Tabla 9). Sin embargo, dicho descenso es leve de modo que cualquier jamón pasteurizado se deteriorará en cuanto se abra el envase y/o se retire de la cámara fría. Tampoco podemos extraer conclusiones al no disponer de réplicas, sin embargo, ya que a mayor tiempo de maceración mayor extracción de proteínas, se podría plantear la hipótesis que habría más agua retenida físicamente pero libre químicamente que daría mayor a_w.

Tabla 9. Valores de actividad de agua (a_w), de jamón después de cocción y después de conservación en frio durante 1 mes.

Muestra	Concentración	Dias de maceración		
		1	**3**	**7**
Jamón después de la cocción	**0 ppm NO2**	0,975	0,984	0,992
	30 ppm NO2	0,989	0,985	0,989
	60 ppm NO2	0,989	0,988	0,989
Jamón 1 mes de conservación	**0 ppm NO2**	-	0,996	0,974
	30 ppm NO2	0,997	0,979	0,997
	60 ppm NO2	0,994	0,988	0,995

CONCLUSIONES

- Revisión bibliográfica

Las sales nitrificantes, ya sea sintéticas o de origen natural, tienen una función en la inocuidad alimentaria para las que no se ha encontrado ninguna alternativa a día de hoy.

Si bien se ha constatado el potencial carcinogénico de la N-nitrosaminas, es necesario establecer bien las condiciones de formulación y procesado que impiden su generación y presencia en derivados cárnicos cocidos para revisar el riesgo real que implica la ingesta de los mismos.

El mayor conocimiento de la función señalizadora y reguladora de la molécula de óxido nítrico en el metabolismo animal lleva a replantearse el papel de los donadores de NO ingeridos con los alimentos, desde el potencial riesgo a las hipotéticas recomendaciones de consumo mínimo diario.

- Trabajo experimental

Los datos obtenidos en este estudio destacan que la presencia de nitrito en el jamón cocido garantiza la estabilidad del color demostrando así que a 30 ppm de nitrito (a*) este se torna más rojo y al duplicar la concentración a 60 ppm, este no muestra cambio, y no afecta los valores de luminosidad, ya que mientras más días este la carne en maceración con salmuera los valores de luminosidad (*L) serán altos, pero la tonalidad amarilla (b*) va bajando a mayor concentración.

Mientras que para el jamón que fue conservado durante 1 mes en frío, los valores demuestran que la concentración de nitritos afecto significativamente los 3 parámetros de color pero tomando en cuenta que la variable días de maceración afecto únicamente a los parámetros (a y b*), pero en general se puede concluir que en comparación con el jamón inmediatamente después de la cocción no hay mucha variación con los resultados.

En el análisis de los parámetros físico-químicos (pH-aw), dada a la limitación de este trabajo no tenemos las réplicas necesarias para saber si hay diferencias estadísticas, pero se confirmó que el jamón después de la cocción aumenta su pH, mientras que la actividad de agua disminuye levemente su valor.

REFERENCIAS

Amézquita, A., Weller, C. L., Wang, L., Thippareddi, H., & Burson, D. E. (2005). Development of an integrated model for heat transfer and dynamic growth of *Clostridium perfringens* during the cooling of cooked boneless ham. International Journal of Food Microbiology, 101(2), 123–144.

Archer, D. L. (2002). Evidence that ingested nitrate and nitrite are beneficial to health. Journal of Food Protection, Vol. 65, pp. 872–875.

Armenteros, M. (2010). Reducción de sodio en lomo y jamón curados. Efecto sobre la proteolisis y las características sensoriales.Tesis doctoral. (Universidad Politecnica de valencia). Retrieved (19-VI-2020) from

Arnau, J. (2014). Cooked Ham. Encyclopedia of Meat Sciences, 2, 82–86.

Arnau, Jacint, Guardia, M. D., Gratacós, M., Férnandez, M., Hierro, E., Roncalés, P. … Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA). (2013). Implicaciones de la reducción de los niveles de uso de nitratos y nitritos en la seguridad, conservación, características sensoriales y modificaciones tecnológicas de los productos cárnicos. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (Catalunya), 1–28. Retrieved (19-VI-2020) from

Baublits, R. T., Brown, A. H., Pohlman, F. W., Johnson, Z. B., Onks, D. O., Loveday, H. D., … Pugh, R. B. (2004). Carcass and beef color characteristics of three biological types of cattle grazing cool-season forages supplemented with soyhulls. Meat Science, 68(2), 297–303.

Bazan, E. (2008). Nitritos y Nitratos: Su uso, control y alternativas en embutidos cárnicos. Nacameh, 2(2), 160–187. Retrieved (6-VII-2020) from http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/

Bedale, W., Sindelar, J. J., & Milkowski, A. L. (2016). Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. Meat Science, 120, 85–92.

BOE. (2002). Boletín oficial del estado legislación consolidada,núm.44,de 20 de febrero de 2002.Referencia: BOE-A-2002-3366. Real Decreto 142/2002.

BOE. (2014). Boletin Oficial del Estado. Legislación consolidada. «BOE» núm. 147, de 18 de junio de 2014 R. B.-A.-2014-6435. Real Decreto 474 / 2014: Norma de calidad de derivados cárnicos. 147(BOE-A-2014-6435), 1–20.

Bombrun, L., Gatellier, P., Carlier, M., & Kondjoyan, A. (2014). The effects of low salt concentrations on the mechanism of adhesion between two pieces of pork semimembranosus muscle following tumbling and cooking. Meat Science, 96(1), 5–13.

Bouton, P. E., Harris, P. V., & Shorthose, W. R. (1976). Dimensional changes in meat during cooking. Journal of Texture Studies, 7(2), 179–192.

Bover-Cid, S., Serra-Castelló, C., Dalgaard, P., Garriga, M., & Jofré, A. (2019). New insights on Listeria monocytogenes growth in pressurised cooked ham: A piezo-stimulation effect enhanced by organic acids during storage. International Journal of Food Microbiology, 290, 150–158.

Carvalho, F. A. L., Pateiro, M., Domínguez, R., Barba-Orellana, S., Mattar, J., Rimac Brnčić, S., … Lorenzo, J. M. (2019). Replacement of meat by spinach on physicochemical and nutritional properties of chicken burgers. Journal of Food Processing and Preservation, 43(5), e13935.

Cava, R., Ladero, L., Cantero, V., & Rosario Ramírez, M. (2012). Assessment of Different Dietary Fibers (Tomato Fiber, Beet Root Fiber, and Inulin) for the Manufacture of Chopped Cooked Chicken Products. Journal of Food Science, 77(4), 346–352.

Chaitiemwong, N., Hazeleger, W. C., Beumer, R. R., & Zwietering, M. H. (2014). Quantification of transfer of Listeria monocytogenes between cooked ham and slicing machine surfaces. Food Control, 44, 177–184.

Cheng, Q., & Sun, D. W. (2007). Effect of cooking bag and netting packaging on the quality of pork ham during water cooking. Meat Science, 75(2), 243–247.

Crowe, W., Elliott, C. T., & Green, B. D. (2019). A review of the in vivo evidence investigating the role of nitrite exposure from processed meat consumption in the development of colorectal cancer. Nutrients, 11(11).

Desmond, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. Meat Science, 74(1), 188–196.

Dineen, N. M., Kerry, J. P., Lynch, P. B., Buckley, D. J., Morrissey, P. A., & Arendt, E. K. (2000). Reduced nitrite levels and dietary α-tocopheryl acetate supplementation: Effects on the colour and oxidative stability of cooked hams. Meat Science, 55(4), 475–482.

Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., & Lorenzo, J. M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. Antioxidants, Vol.

8, p. 429.

Du, C. J., & Sun, D. W. (2006). Automatic measurement of pores and porosity in pork ham and their correlations with processing time, water content and texture. Meat Science, 72(2), 294–302.

Dutra, M. P., Cardoso, G. P., Fontes, P. R., Silva, D. R. G., Pereira, M. T., Ramos, A. de L. S., & Ramos, E. M. (2017). Combined effects of gamma radiation doses and sodium nitrite content on the lipid oxidation and color of mortadella. Food Chemistry, 237, 232–239.

European Commission. (2011). Commission Regulation (EU) Nº 1129/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation (EC) Nº 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives. Official Journal of the European Union, L295, 1–177.

Feiner, G. (2006). Meat Products Handbook: Practical Science and Technology. In Woodhead Publishing , Cambridge. Retrieved (8-VII-2020) from

Fernández, X. (2015). Estudio del efecto de la reducción del contenido de sales nitrificantes en la calidad microbiológica y aroma de los embutidos crudos curados. Tesis doctoral. (Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria). Retrieved (18-VI-2020) from

Flores, M., & Toldrá, F. (2021). Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products. Meat Science, 171, 1-12.

Gallego, J. (2013). Fuente alternativa de nitratos para la industria cárnica: Influencia del extracto de apio y cultivos iniciadores sobre el color del jamón cocido tipo Medellín. Tesis doctoral. (Universidad Miguel Hernández. Escuela Politécnica Superior de Orihuela). Retrieved (19-VI-2020) from

Gorriti, N., & París, J. (2017). Higiene y seguridad en la producción cárnica. Interempresasmedia. TecnoCarne, N° 3, 4–82. Retrieved (10-IX-2020) from

Habermeyer, M., Roth, A., Guth, S., Diel, P., Engel, K.-H., Bernd, E., … Eisenbrand, G. (2014). Nitrate and nitrite in the diet: How to assess their benefit and risk for human health. Molecular Nutrition & Food Research, 1–12.

Honikel, K. O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. Meat Science, 78(1–2), 68–76. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.05.030

Inguglia, E. S., Zhang, Z., Tiwari, B. K., Kerry, J. P., & Burgess, C. M. (2017). Salt reduction

strategies in processed meat products – A review. Trends in Food Science and Technology, Vol. 59, pp. 70–78.

Krause, T. R., Sebranek, J. G., Rust, R. E., & Honeyman, M. S. (2003). Use of Carbon Monoxide Packaging for Improving the Shelf Life of Pork. Journal of Food Science, 68(8), 2596–2603.

Livingston, D. J., & Brown, W. D. (1981). The chemistry of myoglobin and its reactions. Food technology. Retrieved (27-VII-2020) from

Lonergan, S. M., Topel, D. G., & Marple, D. N. (2019). Fresh and cured meat processing and preservation. In The Science of Animal Growth and Meat Technology (pp. 205–228).

Lundberg, J. ., Carlström, M., Larsen, F. & Weizberg, E. (2011). Roles of dietary inorganic nitrate in cardiovascular health and disease. Cardiovascular Research. Clinical Infectious Diseases, pp. 525–532.

Mancini, R. A., & Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. Meat Science, 71(1), 100–121. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.003

Martín, B. (2005). Estudio de las comunidades microbianas de embutidos fermentados ligeramente acidificados mediante técnicas moleculares. Estandarización, seguridad y mejora tecnológica. 20–319. Retrieved (12-IX-2020) from

Matthews, K., & Strong, M. (2005). Salt – its role in meat products and the industry's action plan to reduce it. Nutrition Bulletin, 30(1), 55–61.

Mielnik, J., & Slinde, E. (1983). Sausage Color Measured by Integrating Sphere Reflectance Spectrophotometry When Whole Blood or Blood Cured by Nitrite is Added to Sausages. Journal of Food Science, 48(6), 1723–1725.

Moon, J. H., Lee, J. H., & Lee, J. Y. (2014). Microarray analysis of the transcriptional responses of *Porphyromonas gingivalis* to polyphosphate. BMC Microbiology, 14(1), 1–12.

Mortensen, A., Aguilar, F., Crebelli, R., Di Domenico, A., Dusemund, B., Frutos, M. J., … Younes, M. (2017). Re-evaluation of potassium nitrite (E 249) and sodium nitrite (E 250) as food additives. EFSA Journal, 15(6).

Ockerman, H. W., Plimpton, R. F., CahillL, V. R., & Parrett, N. A. (1978). Influence of short term tumbling, salt and phosphate on cured canned pork. Journal of Food Science, 43(3), 878–881.

Offer, G., & Trinick, J. (1983). On the mechanism of water holding in meat: The swelling and

shrinking of myofibrils. Meat Science, 8(4), 245–281.

Palka, K., & Wesierska, E. (2014). Physics and Chemistry. In Encyclopedia of Meat Sciences (pp. 404–409).

Pateiro, M., Domínguez, R., Bermúdez, R., Munekata, P. E. S., Zhang, W., Gagaoua, M., & Lorenzo, J. M. (2019). Antioxidant active packaging systems to extend the shelf life of sliced cooked ham. Current Research in Food Science, 1, 24–30.

Perez, M. L. (2005). Evolución de las sales nitrificantes en el proceso de elaboración y conservación de las salchichas tipo Frankfurt. Tesis doctoral. (Universidad Complutense de Madrid)

Pietrasik, Z., & Gaudette, N. J. (2014). The impact of salt replacers and flavor enhancer on the processing characteristics and consumer acceptance of restructured cooked hams. Meat Science, 96(3), 1165-1170.

Pietrasik, Z., Gaudette, N. J., & Johnston, S. P. (2016). The use of high pressure processing to enhance the quality and shelf life of reduced sodium naturally cured restructured cooked hams. Meat Science, 116, 102–109.

Rakotondramavo, A., Ribourg, L., Meynier, A., Guyon, C., de Lamballerie, M., & Pottier, L. (2019). Monitoring oxidation during the storage of pressure-treated cooked ham and impact on technological attributes. Heliyon, 5(8), e02285.

Redondo-Solano, M., Valenzuela-Martinez, C., Cassada, D. A., Snow, D. D., Juneja, V. K., Burson, D. E., & Thippareddi, H. (2013). Effect of meat ingredients (sodium nitrite and erythorbate) and processing (vacuum storage and packaging atmosphere) on germination and outgrowth of *Clostridium perfringens* spores in ham during abusive cooling. Food Microbiology, 35(2), 108–115.

Ruusunen, M., & Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. Meat Science, 70(3 SPEC. ISS.), 531–541.

Ruusunen, M., Särkkä-Tirkkonen, M., & Puolanne, E. (2001). Saltiness of coarsely ground cooked ham with reduced salt content (Vol. 10). Retrieved (5-VII-2020) from Maatalouden tutkimuskeskus website: https://jukuri.luke.fi/handle/10024/450082

Sebranek, J. G., & Bacus, J. N. (2007). Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? Meat Science, 77(1 SPEC. ISS.), 136–147.

Sebranek, J., Rust, R., Mendonca, A., & Krause, B. (2011). Incubation of curing brines for the

production of ready-to-eat, uncured, no-nitrite-or-nitrate-added, ground, cooked and sliced ham. Meat Science, 89(4), 507–513. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.05.018

Shahidi, F., Samaranayaka, A. G. P., & Pegg, R. B. (2014). Brine Curing of Meat. Encyclopedia of Meat Sciences, 1, 416–424.

Shelef, L., & Seiter, J. (2005). Indirect and miscellaneous antimicrobials. Antimicrobial in Food, 143, 573–598.

Sindelar, J. J., & Milkowski, A. L. (2011). Sodium nitrite in processed meat and poultry meats : a review of curing and examining the risk/benefit of its use. American Meat Science Association, 3, 1–14.

Sindelar, J. J., & Milkowski, A. L. (2012). Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. Nitric Oxide - Biology and Chemistry, 26(4), 259–266.

Steen, L., Neyrinck, E., De Mey, E., De Grande, A., Telleir, D., Raes, K., … Fraeye, I. (2020). Impact of raw ham quality and tumbling time on the technological properties of polyphosphate-freecooked ham. Meat Science, 164, 108093.

Szaciłowski, K., Chmura, A., & Stasicka, Z. (2005). Interplay between iron complexes, nitric oxide and sulfur ligands: Structure, (photo)reactivity and biological importance. Coordination Chemistry Reviews, 249(21–22), 2408–2436.

Tenderis, B., Kılıç, B., Yalçın, H., & Şimşek, A. (2020). Impact of sodium lactate, encapsulated or unencapsulated polyphosphates and their combinations on *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* growth in cooked ground beef. International Journal of Food Microbiology, 321, 108560.

Tocra, J. (2015). Determinación de parámetros tecnológicos para evaluar la estabilidad térmica, microbiológica, química y sensorial de jamón inglés a base de pulpa de caballa (Scomber japonicus peruanus). 1–123.

Toldrá, F., & Reig, M. (2016). Ham: Cooked Ham. Encyclopedia of Food and Health, 303–306.

Válková, V., Saláková, A., Buchtová, H., & Tremlová, B. (2007). Chemical, instrumental and sensory characteristics of cooked pork ham. Meat Science, 77(4), 608–615.

Waga, M., Takeda, S., & Sakata, R. (2017). Effect of nitrate on residual nitrite decomposition rate in cooked cured pork. Meat Science, 129, 135–139.

Wittenberg, J. B., & Wittenberg, B. A. (2003). Myoglobin function reassessed. Journal of

Experimental Biology, Vol. 206, pp. 2011–2020.

Yun-Sang, C., Tae-Kyung, K., Ki-Hong, J., Jong-Dae, P., Hyun-Wook, K., Ko-Eun, H., & Kim, Y. B. (2017). Effects of pre-converted nitrite from red beet and ascorbic acid on quality characteristics in meat emulsions. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, Vol. 37, pp. 288–296.

Zhang, L., Lyng, J. G., & Brunton, N. P. (2006). Quality of radio frequency heated pork leg and shoulder ham. Journal of Food Engineering, 75(2), 275–287.