



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Desarrollo de nuevos jamones curados
deshuesados reducidos en sodio. Efecto de la raza y
evaluación de la bioactividad de sus péptidos.

Autora:

Beatriz Muñoz Rosique

Director:

Dr. D. Luis Tejada Portero

Murcia, Septiembre de 2022



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Desarrollo de nuevos jamones curados
deshuesados reducidos en sodio. Efecto de la raza y
evaluación de la bioactividad de sus péptidos.

Autora:

Beatriz Muñoz Rosique

Director:

Dr. D. Luis Tejada Portero

Murcia, Septiembre de 2022



AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

El Dr. D. Luis Tejada Portero como Director ⁽¹⁾ de la Tesis Doctoral titulada “Desarrollo de nuevos jamones curados deshuesados reducidos en sodio. Efecto de la raza y evaluación de la bioactividad de sus péptidos.” realizada por Dña. Beatriz Muñoz Rosique en el Programa de Doctorado Ciencias de la Salud, **autoriza su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmo, para dar cumplimiento al Real Decreto 99/2011 de 28 de enero, en Murcia a 26 de septiembre de 2022.

⁽¹⁾ Si la Tesis está dirigida por más de un Director tienen que constar y firmar ambos.

AGRADECIMIENTOS

Todavía me cuesta creer que esta etapa de mi vida esté terminando. Han sido 5 años de trabajo en los que he estado acompañada de muchas personas que me han ayudado, apoyado y animado, y no quiero dejar de agradecerles aquí todo lo que han hecho por mí.

A mi Director de Tesis D. Luis Tejada. Gracias por dedicar parte de tu tiempo a escucharme, asesorarme y guiarme durante todos estos años. Gracias por transmitirme tu paciencia e ilusión por lo que haces. Ha sido un privilegio para mí tenerte como Director.

Al Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades por concedernos este proyecto de investigación a nivel industrial RIS3MUR de la Convocatoria Retos-Colaboración del Programa Estatal de Investigación, Desarrollo e Innovación orientada a los Retos de la Sociedad. A la Universidad Católica San Antonio de Murcia (UCAM) y a Aromaibérica Serrana, S.L. por hacer este proyecto en colaboración y por darme la oportunidad de formarme en el campo de la investigación para seguir creciendo como científica y como persona. A Juan Ramón Arias, gracias. Me alegra mucho que las circunstancias hayan cruzado nuestros caminos.

A D. Julio Tapiador, porque escucharte siempre ha sido como leer un libro. Gracias por la idea principal de este proyecto, que sin ti no hubiera sido posible, y por ayudarme con la técnica del proceso. Gracias por abrirme tantas puertas y considerarme una más de tu equipo.

A mi tito Pepe, porque desde que empecé a trabajar contigo me has enseñado todo lo que sé del arte de curar jamones, del proceso, de las instalaciones, de las materias primas... Siempre transmitiéndome tu gusto por lo que haces cada día y compartiendo conmigo todos tus secretos.

A Cristina Igualada, por ser mis manos y pies en el laboratorio. A Eva Salazar, porque con tu saber hacer conseguimos publicar el artículo. A Noelia, porque el destino quería que tú y yo trabajásemos juntas y llegaste como ángel caído del cielo, siempre con palabras de ánimo para mí. He conocido pocas personas como tú. Gracias.

A todos los trabajadores de AROMAIS. Gracias por ayudarme con los movimientos de jamones y con la toma y envío de muestras, que a veces se nos resistía.

Sois un equipo admirable. Y, en especial, a mis compañeras Aurora y Silvia. Por cubrir mis ausencias y estar siempre al pie del cañón.

A mis amigas: Irene, Amanda, M. Ángeles, Sandra y Victoria, por recordarme en todo momento que yo podía con esto, por animarme y escucharme cuando más lo necesitaba. Prometo devolver todos los ratos que hemos dejado en el tintero.

A Esther, simplemente porque te admiro. Porque tú siempre has puesto la tranquilidad, la serenidad y la sensatez que hacía falta en mi vida. Gracias de corazón.

A mis hermanas, mi padre y mi madre. Gracias por confiar en mí y por estar siempre que os he necesitado. Gracias por ocuparse de los peques siempre que habéis podido. Al igual que Antonio, Ana, Santiago y Ginés (que en paz descanse). Gracias.

A Julia y a Thiago, porque sois el motor de mi vida y sé que habéis echado mucho de menos a mamá mientras estaba estudiando. Espero que estos años de sacrificio sirvan para ser siempre un ejemplo a seguir para vosotros.

A Juan Fran. Gracias por ser el mejor compañero de equipo, por valorarme, por empoderarme, por ser corresponsable y acompañarme en este duro pero satisfactorio camino.

Gracias a todos.

“Nunca renuncies a un sueño sólo por el tiempo que tardará en cumplirse. El tiempo pasará de todas formas”

Earl Nigtingale

ARTÍCULOS PUBLICADOS

El contenido de esta tesis ha sido parcialmente publicado en el siguiente trabajo:

- Muñoz-Rosique, B., Salazar, E., Tapiador, J., Peinado, B., Tejada, L. (2022). Effect of Salt Reduction on the Quality of Boneless Dry-Cured Ham from Iberian and White Commercially Crossed Pigs. *Foods*, 11(6), 812. <https://doi.org/10.3390/foods11060812>

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS	17
ÍNDICE DE FIGURAS	21
LISTA DE ABREVIATURAS.....	25
RESUMEN.....	27
ABSTRACT	29
I.INTRODUCCIÓN.....	33
I.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA Y SOCIAL DEL JAMÓN EN ESPAÑA	33
I.2. INFLUENCIA DE LA RAZA EN LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS DEL JAMÓN CURADO.	41
I.3. JAMÓN CURADO Y SU PROCESO DE ELABORACIÓN	43
I.3.1. <i>Elaboración de jamón deshuesado en fresco</i>	53
I.4. IMPORTANCIA DE LA SAL EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL JAMÓN CURADO.....	54
I.5. PREOCUPACIÓN DE LA POBLACIÓN POR EL CONSUMO DE SODIO	57
I.6. MÉTODOS PARA REDUCIR EL SODIO EN EL JAMÓN CURADO... ..	58
I.7. OTROS PRODUCTOS CÁRNICOS REDUCIDOS EN SAL	62
I.8. USO DE NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA MANTENER LA ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS REDUCIDOS EN SAL. 66	
I.9. FENÓMENOS DE DEGRADACIÓN DE LOS LÍPIDOS EN EL JAMÓN IBÉRICO	67
I.10. TRANSFORMACIÓN DE LOS COMPUESTOS NITROGENADOS EN EL JAMÓN IBÉRICO	69
I.11. PÉPTIDOS BIOACTIVOS PRESENTES EN EL JAMÓN CURADO.	71
I.12. CALIDAD SENSORIAL DEL JAMÓN CURADO	77

I.13. DECLARACIONES NUTRICIONALES Y DE PROPIEDADES SALUDABLES EN EL JAMÓN CURADO	78
II. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS	85
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	89
III.1. SELECCIÓN DE LA MATERIA PRIMA.....	89
III.2. PROCESO DE ELABORACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS.....	90
III.3. PROCEDIMIENTO GENERAL DE TRABAJO	93
III.3.1. ESTUDIO 1: Caracterización de la materia prima.....	95
III.3.2. ESTUDIO 2: Evaluación de la etapa de salado. Estudio del nivel de penetración de la sal y efecto de la raza.	95
III.3.3. ESTUDIO 3: Análisis de la difusión de sal en el jamón en la etapa de postsalado. Efecto del tiempo de procesado y la raza de cerdo.	96
III.3.4. ESTUDIO 4: Evaluación del efecto del tipo de procesado y de la raza de cerdo sobre las características fisicoquímicas, bioquímicas, microbiológicas y sensoriales de los jamones.....	96
III.3.5. ESTUDIO 5: Determinación del momento óptimo de curación.	97
III.3.6. ESTUDIO 6: Estudio de la bioactividad en jamones con diferente merma (33 y 38%). Efecto de la raza y el procesado.....	98
III.3.7. ESTUDIO 7: Secuenciación de péptidos bioactivos.....	98
III.4. ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN Y CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS.....	99
III.4.1. Humedad.....	99
III.4.2. Cenizas	99
III.4.3. Grasa.....	99
III.4.4. Minerales.....	99
III.4.5. Determinación del contenido en sodio	100
III.4.6. Proteína bruta y Nitrógeno Total.....	101
III.4.7. Actividad de agua (aw)	101
III.5. ESTUDIO DE LA PROTEÓLISIS DEL JAMÓN	102

III.5.1.	<i>Determinación de aminoácidos libres (AAL)</i>	103
III.6.	ANÁLISIS SENSORIAL	104
III.6.1.	<i>Evaluación Sensorial (estudio con consumidores)</i>	104
III.6.2.	<i>Análisis instrumental del color</i>	108
III.6.3.	<i>Análisis instrumental de la textura</i>	108
III.7.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	109
III.8.	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL JAMÓN.....	109
III.8.1.	<i>Evaluación de la actividad antihipertensiva (IECA) del jamón</i>	109
III.8.2.	<i>Evaluación de la actividad antioxidante</i>	110
III.1.	IDENTIFICACIÓN DE LOS PÉPTIDOS.....	112
III.2.	ANÁLISIS DE LA BIOACTIVIDAD DE LOS PÉPTIDOS IDENTIFICADOS	113
III.3.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS	113
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	117
IV.1.	ESTUDIO 1: CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA.....	117
IV.2.	ESTUDIO 2: EVALUACIÓN DE LA ETAPA DE SALADO. ESTUDIO DEL NIVEL DE PENETRACIÓN DE LA SAL Y EFECTO DE LA RAZA.	118
IV.3.	ESTUDIO 3: ANÁLISIS DE LA DIFUSIÓN DE SAL EN EL JAMÓN EN LA ETAPA DE POSTSALADO. EFECTO DEL TIEMPO DE PROCESADO Y LA RAZA DE CERDO. .	121
IV.4.	ESTUDIO 4: EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL TIPO DE PROCESADO Y DE LA RAZA DE CERDO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS, BIOQUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS Y SENSORIALES DE LOS JAMONES.	125
IV.4.1.	<i>Parámetros fisicoquímicos, contenido de sal y parámetros microbiológicos</i>	125
IV.4.2.	<i>Minerales</i>	129
IV.4.3.	<i>Aminoácidos libres</i>	131
IV.4.4.	<i>Estabilidad microbiológica del nuevo producto</i>	133
IV.4.5.	<i>Color instrumental y perfil de textura</i>	134
IV.4.6.	<i>Análisis sensorial con consumidores (aceptación y preferencia)</i>	137

IV.5. ESTUDIO 5: DETERMINACIÓN DEL MOMENTO ÓPTIMO DE CURACIÓN.	140
IV.6. ESTUDIO 6: ESTUDIO DE LA BIOACTIVIDAD EN JAMONES CON DIFERENTE MERMA (33 Y 38%). EFECTO DE LA RAZA Y EL PROCESADO.	142
IV.6.1. <i>Evaluación de la actividad antioxidante (DPPH) en jamones con diferente merma de curación (33 y 38%).</i>	142
IV.6.2. <i>Evaluación de la actividad antihipertensiva (IECA-I) en jamones con diferente merma de curación (33 y 38%).</i>	145
IV.7. ESTUDIO 7: SECUENCIACIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS.	148
IV.7.1. <i>Estudio de las secuencias peptídicas con actividad putativa.</i>	151
IV.7.2. <i>Análisis de bioactividad en función de la composición aminoacídica.</i>	157
V. CONCLUSIONES	167
VI. BIBLIOGRAFÍA	171

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla I.1. Contenido basal (2016) y objetivos de reducción (2020) en las subcategorías de alimentos incluidas en el PLAN. (Fte. Plan de colaboración para la mejora de la composición de los alimentos y bebidas y otras medidas 2020).</i>	63
<i>Tabla I.2. Secuencias de péptidos con bioactividad identificados en jamón curado.</i>	76
<i>Tabla I.3. Valores mínimos para determinar las declaraciones nutricionales para los diferentes minerales (BOE, 2006).</i>	79
<i>Tabla I.4. Declaraciones saludables atribuidas a las declaraciones nutricionales de minerales (BOE, 2006).</i>	81
<i>Tabla III.1. Esquema de los estudios experimentales.</i>	94
<i>Tabla III.2. Características del panel de consumidores.</i>	104
<i>Tabla IV.1. Caracterización de la materia prima fresca.</i>	117
<i>Tabla IV.2. Efecto de la zona de la loncha y la raza en la penetración de la sal y en las características fisicoquímicas en la etapa de salado.</i>	119
<i>Tabla IV.3. Efecto de la zona de la loncha y la raza en los macro y microminerales en la etapa de salado.</i>	120
<i>Tabla IV.4. Evolución de los parámetros físico-químicos y de composición durante la etapa de postsalado en los jamones ibéricos reducidos en sal (IBR).</i>	122
<i>Tabla IV.5. Evolución de los macro y microminerales durante la etapa de postsalado en los jamones ibéricos reducidos en sal (IBR).</i>	124
<i>Tabla IV.6. Efecto de la fase de procesado y la raza en los parámetros fisicoquímicos y en el contenido de sal de los jamones curados deshuesados.</i>	125
<i>Tabla IV.7. Efecto de la raza y el tipo de procesado en los parámetros fisicoquímicos y en el contenido en sal de los jamones ibéricos y blancos en Fase V: producto final.</i>	128
<i>Tabla IV.8. Efecto de la fase de procesado y de la raza en la composición mineral de los jamones deshuesados.</i>	130
<i>Tabla IV.9. Efecto del procesado y de la raza en el contenido de aminoácidos libres (AAL).</i>	132

<i>Tabla IV.10. Resultados del estudio microbiológico en el IBR y BLR al final del proceso de curación.....</i>	<i>134</i>
<i>Tabla IV.11. Efecto del procesado y de la raza en la valoración instrumental del color... 135</i>	<i>135</i>
<i>Tabla IV.12. Efecto del procesado y de la raza en la valoración instrumental de la textura.</i>	<i>136</i>
<i>Tabla IV.13. Efecto del procesado y la raza en la aceptabilidad del producto según el panel de consumidores.</i>	<i>137</i>
<i>Tabla IV.14. Efecto del procesado y la raza en la intensidad de los atributos sensoriales según el panel de consumidores.....</i>	<i>138</i>
<i>Tabla IV.15. Efecto del tiempo de curación en los parámetros de color instrumental de IBR.</i>	<i>140</i>
<i>Tabla IV.16. Efecto del tiempo de curación en los parámetros de textura instrumental de IBR.</i>	<i>141</i>
<i>Tabla IV.17. Efecto del tiempo de curación en la aceptabilidad del IBR según un panel de consumidores.....</i>	<i>141</i>
<i>Tabla IV.18. Efecto de la raza y el procesado en la actividad antioxidante en jamones con una merma de curación del 38%.....</i>	<i>144</i>
<i>Tabla IV.19. Efecto de la raza en la actividad antioxidante de los jamones con una merma de curación del 33%.</i>	<i>144</i>
<i>Tabla IV.20. Efecto de la merma en la actividad antioxidante de los jamones ibéricos y blancos reducidos en sal (IBR y BLR).....</i>	<i>145</i>
<i>Tabla IV.21. Efecto de la raza y el procesado en la actividad IECA en jamones con una merma de curación del 38%.</i>	<i>146</i>
<i>Tabla IV.22. Efecto de la raza en la actividad IECA de los jamones con una merma de curación del 33%.....</i>	<i>146</i>
<i>Tabla IV.23. Efecto de la merma en la actividad IECA de los jamones ibéricos y blancos reducidos en sal (IBR y BLR).....</i>	<i>148</i>
<i>Tabla IV.24. Número de péptidos secuenciados por muestra.....</i>	<i>148</i>
<i>Tabla IV.25. Identificación de las secuencias de aminoácidos de los péptidos presentes en el jamón ibérico reducido en sal (IBR) mediante LC-MS/MS.</i>	<i>158</i>

<i>Tabla IV.26. Identificación de las secuencias de aminoácidos de los péptidos presentes en el jamón ibérico tradicional (IBT) mediante LC-MS/MS.....</i>	<i>161</i>
<i>Tabla IV.27. Identificación de las secuencias de aminoácidos de los péptidos presentes en el jamón blanco reducido en sal (BLR) mediante LC-MS/MS. (Masa experimental expresada en Da).....</i>	<i>162</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura I.1. Sacrificio de ganado en España en 2021 (MAPA, 2022)</i>	34
<i>Figura I.2. Cerdo de raza Large White (Fuentes García et al., 2006)</i>	34
<i>Figura I.3. Cerdo de raza Landrace (Fuentes García et al., 2006)</i>	35
<i>Figura I.4. Cerdo de raza Duroc (Fuentes García et al., 2006)</i>	35
<i>Figura I.5. Raza de cerdo ibérico.</i>	36
<i>Figura I.6. Mapa de jamones con denominación de origen protegida (MAPA, 2017)</i>	37
<i>Figura I.7. Piezas comercializadas de jamones ibéricos desde la publicación del Real Decreto 4/2014 (RIBER-MAPA)</i>	38
<i>Figura I.8 Precintos de clasificación por colores según alimentación y pureza racial para los jamones, paletas y lomos procedentes de cerdos ibéricos.</i>	39
<i>Figura I.9. Censo de cerdos ibéricos por Comunidades Autónomas. Año 2021. (MAPA)</i> .40	
<i>Figura I.10. Sangrado manual del jamón (Fte. Elaboración propia)</i>	44
<i>Figura I.11. Aplicación de nitrificante a la pieza (Fte. Elaboración propia).</i>	45
<i>Figura I.12. Cámara de salazón (Fte. Elaboración propia).</i>	46
<i>Figura I.13. Recubrimiento de las piezas con sal en contenedores de acero inoxidable (Fte. Elaboración propia)</i>	46
<i>Figura I.14. Salazón de jamones sobre suelo (Fte. Elaboración propia)</i>	46
<i>Figura I.15. Perniles en fase de postsalado (Fte. Elaboración propia)</i>	48
<i>Figura I.16. Fase de secado (Fte. Elaboración propia)</i>	49
<i>Figura I.17. Jamones en estufaje (Fte. Elaboración propia)</i>	50
<i>Figura I.18. Cala y selección del jamón curado (Fte. Elaboración propia).</i>	51
<i>Figura I.19 Proceso de curación del jamón ibérico (Fte. elaboración propia)</i>	52
<i>Figura I.20. Compromiso para la reducción de sal y grasa en los derivados cárnicos (v 4.2) (ANICE,2016)</i>	58
<i>Figura I.21 Vía lipolítico-oxidativa durante el secado y maduración del jamón ibérico. Formación del sabor y el aroma. (Elaboración propia).</i>	67

Figura I.22 Esquema de actuación de los enzimas proteolíticos(Arnau & Monfort, 1998).	70
Figura I.23. Aspecto de la loncha de jamón ibérico.....	78
Figura III.1. Esquema general del diseño experimental.	89
Figura III.2. Deshuesado del jamón en fresco (Fte. Elaboración propia).	90
Figura III.3 Ecuación para el cálculo de merma.....	91
Figura III.4. Toma de muestras con cilindro de acero o “sacabocados” (Fte. Elaboración propia).	92
Figura III.5. Jamones ibéricos deshuesados en la cámara de maduración (Fte. Elaboración propia).	92
Figura III.6. Detalle del instrumento “sacabocados” (Fte. Elaboración propia).	96
Figura III.7 Ecuación para la determinación de NaCl.	100
Figura III.8 Ecuación para el cálculo de la fracción de NNP.	102
Figura III.9 Ecuación para el cálculo del índice de proteólisis (IP).....	102
Figura III.10. Formulario descriptivo y hedónico para la comparación entre las diferentes muestras de jamones curados (página 1).....	106
Figura III.11. Formulario descriptivo y hedónico para la comparación entre las diferentes muestras de jamones curados (página 2).....	107
Figura III.12 Recta patrón de representación de la actividad antioxidante equivalente al Trolox (TEAC) a diferentes concentraciones (2-22 μ M).	111
Figura IV.1 Identificación de las zonas a analizar para el estudio de la penetración de la sal en la etapa de salado.	118
Figura IV.2. Zonas de análisis para el estudio de la difusión de sal en el jamón ibérico reducido en sal.....	121
Figura IV.3. Evolución de la concentración de Na en los jamones IBR y BLR a lo largo del proceso de curación.....	131
Figura IV.4. Evolución de la actividad antioxidante in vitro en función de la concentración de péptidos en jamones con merma de curación 33% y 38%.	143
Figura IV.5. Evolución de la actividad IECA en función de la concentración de péptidos en los jamones con merma de curación 33% y 38%.	146

Figura IV.6 Rango de tamaño de los péptidos identificados en las diferentes muestras estudiadas en contraste con la base de datos BIOPEP. 150

Figura IV.7. Intersección de los precursores peptídicos identificados en las diferentes muestras..... 152

Figura IV.8. Heatmap y dendrograma de bioactividades de las diferentes muestras de jamón estudiadas. Cuantificación de la bioactividad con respecto a la media. Se define la relación de agrupación entre los grupos de actividades..... 153

Figura IV.9. Representación de la bioactividad en cada muestra para cada uno de los grupos (cluster) de actividades..... 155

Figura IV.10. Cuantificación normalizada de precursores peptídicos (x 103) en las diferentes muestras de jamón curado..... 156

LISTA DE ABREVIATURAS

AAL: aminoácidos libres	HHP: Altas Presiones Hidrostáticas (High Hydrostatic Pressure)
AENOR: Asociación Española de Normalización y Certificación	His: Histidina
AESAN: Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición	Ile: Isoleucina
AGL: ácidos grasos libres	HORECA: Hoteles, Restaurantes y Cafeterías. Sector de los Servicios de Comidas
Ala: Alanina	Hr: Humedad relativa
Arg: Arginina	IBR: jamón curado reducido en sal procedente de cerdo de cebo ibérico
Asp: Aspártico	IBR₃₃: jamón curado reducido en sal procedente de cerdo de cebo ibérico con un 33% de merma.
aw: actividad de agua	IBT: jamón curado tradicional procedente de cerdo de cebo ibérico.
BLR: jamón curado reducido en sal procedente de cerdo blanco cruzado	IECA: Inhibidor de la Enzima Convertidora de la Angiotensina
BLR₃₃: jamón curado reducido en sal procedente de cerdo blanco cruzado con un 33% de merma	IP: Índice de Proteólisis
CDR: cantidad diaria recomendada	Leu: Leucina
Cys: Cisteína	L-Lys: L-Lisina
DOP: Denominación de Origen Protegida	Lys: Lisina
DPP-IV: Dipeptidil Peptidasa IV	Met: Metionina
ECA-I: Enzima Convertidora de Angiotensina I	NOMb: Nitrosomioglobina
Glu: Ácido glutámico	NNP: Nitrógeno No Proteico
Gly: Glicina	NT: Nitrógeno Total

OMS: Organización Mundial de la Salud

Phe: Fenilalanina

PPA: Peste Porcina Africana

Pro: Prolina

Ser: Serina

TC: Tomografía Computerizada

Thr: Treonina

Tyr: Tirosina

Val: Valina

US: Ultrasonidos

RESUMEN

El jamón es un producto de gran valor en la gastronomía española. Los expertos han recomendado reducir su consumo debido a su alto contenido en sal y su relación con la aparición de enfermedades cardiovasculares. Reducir la sal en los jamones curados no es una tarea sencilla puesto que se podrían ver afectadas las características fisicoquímicas, sensoriales y la seguridad alimentaria del productor final. El aumento esperado de la proteólisis en los jamones reducidos en sal podría aumentar la concentración de péptidos bioactivos y con ello sus propiedades saludables.

El objetivo de esta tesis doctoral (realizada en el marco de un doctorado industrial y un proyecto de investigación estratégico de la empresa Aromaibérica Serrana, S.L. (AROMAS) es desarrollar jamones curados deshuesados procedentes de perniles de cerdo ibérico (y de razas comerciales) en un nuevo formato, con una reducción de sodio del 25% y evaluar la bioactividad de sus péptidos. El jamón deshuesado reducido en sal a partir de cerdos ibéricos se ha comparado con jamón ibérico curado de forma tradicional con la finalidad de comprobar que la calidad sensorial obtenida era la adecuada, además de estudiar si la reducción de sal aumentaba los péptidos y, por tanto, la bioactividad del producto.

Se ha realizado una preselección de la materia prima de los ensayos para que fuese lo más homogénea posible (ESTUDIO 1), la caracterización físico-química del jamón en la etapa de salado (ESTUDIO 2) y se ha estudiado la difusión de sal en el postsalado (ESTUDIO 3). A continuación, se determinó el efecto de la raza y el procesado en las características fisicoquímicas, composicionales, microbiológicas y sensoriales de los jamones (ESTUDIO 4) durante el procesado y se determinó el momento óptimo de curación (ESTUDIO 5). Finalmente, se identificaron los péptidos presentes en jamones con diferentes mermas de curación y se evaluó su bioactividad (ESTUDIOS 6 y 7).

Del estudio de la etapa de salado se ha visto que la penetración de la sal acontece de manera más rápida en los jamones blancos que en los ibéricos y, junto con el estudio de la difusión de sal en la etapa de postsalado, se observa que el deshuesado y la reducción del tiempo de salazón permiten una correcta migración de la sal hacia el centro de la pieza que evitará problemas posteriores de textura.

Para ello fue necesario aumentar el tiempo de postsalado en los jamones reducidos en sal.

El nuevo método de procesado permite reducir el contenido en sodio del jamón ibérico y blanco curado, siendo microbiológicamente estable y no observándose un efecto negativo en la actividad proteolítica ni en el contenido en aminoácidos libres. Los resultados de textura y color instrumental son adecuados tanto en el jamón ibérico como blanco reducido en sal y obtienen una aceptación adecuada por parte de los consumidores. La textura de los jamones ibéricos reducidos en sal se ve modificada respecto al homólogo tradicional pero sus características sensoriales son mejor evaluadas entre los consumidores.

Respecto al tiempo óptimo de curación, se ha definido que un 38% de pérdida de humedad es un momento adecuado para dar por finalizado el proceso, en función de los resultados obtenidos en la caracterización físico-química, análisis sensorial de consumidores e instrumental (color y textura).

Los nuevos jamones, además de ir acompañado del reclamo “Reducido en sal”, posee otras características nutricionales como “Alto contenido en Hierro”, “Fuente de Potasio”, “Alto contenido en Fósforo” y “Alto contenido en Zinc”, que permitirían, además, etiquetarlos con sus respectivas declaraciones de propiedades saludables.

Del estudio de bioactividad y secuenciación de péptidos se ha visto que todas las muestras presentan actividad antihipertensiva y antioxidante, destacando estas actividades en los jamones ibéricos y blancos reducidos en sal, respectivamente. Por otro lado, a pesar de no haber encontrado ninguna secuencia con coincidencias en la base de datos BIOPEP, sí se han identificado muchas otras que podrían tener propiedades bioactivas tras la digestión.

Se concluye, por tanto, que la nueva forma de procesado permite elaborar jamones ibéricos y blancos deshuesados reducidos en sal, más saludables, y que serán fuente de péptidos bioactivos con potencial antihipertensivo y antioxidante.

Palabras clave: jamón curado, jamón ibérico, jamón deshuesado, reducción de sal, aminoácidos, péptidos, proteólisis, antioxidante, antihipertensiva.

ABSTRACT

Ham is a highly valued product in Spanish gastronomy. Experts have recommended reducing its consumption due to its high salt content and its relationship with the appearance of cardiovascular diseases. Reducing salt in cured hams is not a simple task as it could affect the physicochemical, sensory and food safety characteristics of the final producer. The expected increase in proteolysis in salt-reduced hams could increase the concentration of bioactive peptides and thus their health properties.

The aim of this thesis (carried out within the framework of an industrial doctorate and a strategic research project of the company Aromaibérica Serrana, S.L. -AROMAIS-) is to develop boneless cured hams from Iberian pig (and commercial breeds) in a new format, with a 25% of sodium reduction and to evaluate the bioactivity of its peptides. The salt-reduced boneless ham from Iberian pigs has been compared with traditionally cured Iberian ham in order to verify that the sensory quality obtained was adequate, as well as to study whether the salt reduction increased the peptides and, therefore, the bioactivity of the product.

For this purpose, hams with similar characteristics were selected within each batch (STUDY 1), the salting stage was evaluated (STUDY 2) and salt diffusion in post-salting was studied (STUDY 3). Next, the effect of breed and processing on the physicochemical, compositional, microbiological and sensory characteristics of the hams was determined (STUDY 4) and the optimal curing time was established (STUDY 5). Finally, the bioactivity of the samples was evaluated and peptides from hams with different curing times were sequenced (STUDIES 6 and 7).

From the study of the salting stage, it was found that salt penetration is faster in white hams than in Iberian hams and, together with the study of salt diffusion in the post-salting stage, it was observed that boning and the reduction of the salting time allow a correct migration of the salt towards the centre of the piece, which will prevent subsequent texture problems. To achieve this, it was necessary to increase the post-salting time in the hams reduced in salt.

The new processing method allows a reduction in the sodium content of cured Iberian and white ham, it is microbiologically stable and has no negative effect on proteolytic activity or free amino acid content. The results of instrumental texture and colour are adequate in both the Iberian ham and the salt-reduced white ham and are well accepted by consumers. The texture of the salt-reduced Iberian hams is modified with respect to the traditional counterpart, but their sensory characteristics were better evaluated by the consumers.

With regard to the optimum curing time, it has been verified by means of colour and instrumental texture control and sensory analysis with consumers that 38% moisture loss is an appropriate time to end the process.

The new Iberian ham, as well as being accompanied by the claim "Reduced salt", has other nutritional characteristics such as "High Iron content", "Source of Potassium", "High Phosphorus content" and "High Zinc content", which would also allow them to be labelled with their respective health claims.

From the study of bioactivity and peptide sequencing, it was found that all the samples showed antihypertensive and antioxidant activity, with these activities standing out in the Iberian and white hams reduced in salt, respectively. On the other hand, despite not having found any sequence matches in the BIOPEP database, many other sequences have been identified that could have bioactive properties after digestion.

It is concluded, therefore, that the new processing method makes it possible to produce healthier, reduced-salt boneless Iberian and white hams, which will be a source of bioactive peptides with antihypertensive and antioxidant potential.

Keywords: dry cured ham, Iberian ham, boneless ham, salt reduction, amino acids, peptides, proteolysis, antioxidant, antihypertensive

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

I.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA Y SOCIAL DEL JAMÓN EN ESPAÑA

En España se ha elaborado de forma tradicional el jamón curado durante siglos, siendo embajador de la cultura española. Su historia se remonta a años precristianos; siendo en el siglo II a. C. cuando aparecen las primeras referencias a la salazón del porcino. Ha sido un producto de vital importancia en los hogares rurales hasta mediados del siglo XX, pues la tradicional matanza del cerdo los proveía de alimentos que se podían conservar durante todo el año. Así, el jamón curado comenzó a formar parte de la industria alimentaria española, siguiendo un proceso natural que aprovechaba los cambios climatológicos del invierno, la primavera, el verano y el otoño. Los primeros intentos de salado en ambientes refrigerados datan de principios de este siglo. Este suceso y las investigaciones realizadas a posteriori han hecho que se pueda ir seleccionando la materia prima y perfeccionado el proceso para mejorar la calidad y contentar las preferencias de los consumidores que, cada vez más, tienden a demandar productos más sanos, nutritivos y sabrosos y que, además, utilicen métodos respetuosos con el medio ambiente.

La producción de ganado porcino es una actividad económica muy importante en España. Con diferencia es la especie que más se utiliza para producción de carne, estando el número de sacrificios muy por encima del resto de animales domésticos. En 2021 se sacrificaron 58.370.485 cerdos, frente a las 9.711.254 cabezas de ganado ovino o las 2.552.368 del bovino (Figura I.1). La comunidad autónoma que más cerdos de cebo produjo fue Cataluña con 23.665.868 cerdos, seguida de Aragón (10.530.657) y Castilla y León (5.859.700). La Región de Murcia se sitúa en cuarta posición con una producción de 4.515.705 cerdos en el año 2021 (MAPA, 2022).

La raza es el factor más distintivo del jamón, ya que influirá en la calidad de la carne y en la forma en la que se distribuye la grasa. Las razas de capa blanca, en los sistemas productivos intensivos suelen cruzarse entre sí para mejorar la calidad del producto y aumentar el rendimiento. Generalmente, en los programas de hibridación porcina suelen utilizarse razas como Large White o Landrace Belga

para la línea materna y Duroc para la línea paterna (Figura I.2-Figura I.4) (Fuentes García et al., 2006). Sus jamones suelen destinarse a la elaboración de Jamón Serrano y se exigirá que cumplan unos parámetros determinados de calidad (Ventanas & Silva, 2022). El peso mínimo (con la pata) será 9,5 kg y el espesor de grasa nunca será inferior a 0,8 cm (medido en el punto de convergencia del músculo vasto lateral y la punta superior del hueso isquion). Además, si se realiza el corte en V de la piel quedarán cubiertos completamente de grasa. Tampoco se aceptarán para la producción de Jamón Serrano aquellas piezas que pudieran tener características organolépticas o de conformación que puedan afectar negativamente al producto final (MAPA, 2008).

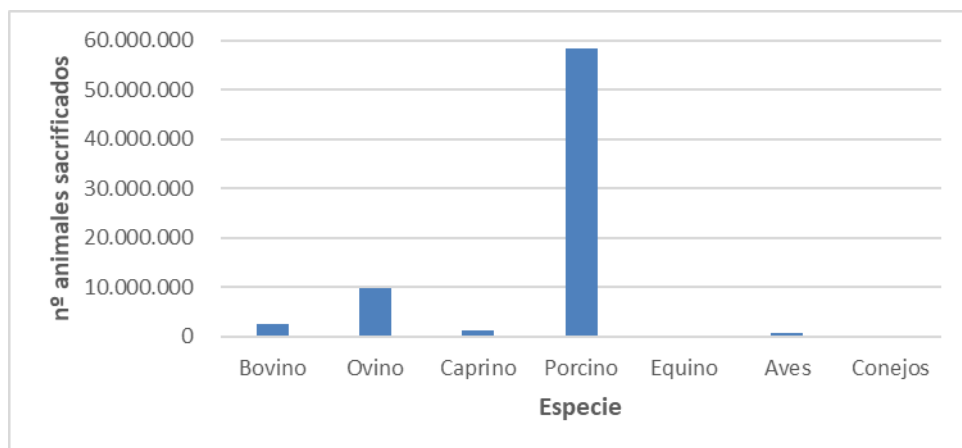


Figura I.1. Sacrificio de ganado en España en 2021 (MAPA, 2022).



Figura I.2. Cerdo de raza Large White (Fuentes García et al., 2006)



Figura I.3. Cerdo de raza Landrace (Fuentes García et al., 2006).



Figura I.4. Cerdo de raza Duroc (Fuentes García et al., 2006)

Por otro lado, el cerdo ibérico es una agrupación racial autóctona, de capa colorada y de aptitud fundamentalmente cárnica. En la década de los 60, cuando tuvo lugar el desarrollo industrial, el hábitat del cerdo ibérico quedó ligado al ecosistema de la dehesa, ya que las zonas rurales comenzaron a despoblarse. Se temió por la supervivencia de la raza, pero fueron ganaderos conscientes de su valor y de la necesidad de su conservación los que mantuvieron esta estirpe y la seleccionaron cuidadosamente para el aprovechamiento extensivo de dicho ecosistema. Esta selección ha hecho que la raza tenga una baja susceptibilidad al

estrés y soporte momentos de escasez de alimentación. Tiende a acumular grasa en la zona subcutánea y el magro contiene un alto grado de veteado graso (Bello Gutiérrez, 2008).



Figura I.5. Raza de cerdo ibérico.

Su contenido en grasa hace que se ralentice el proceso de curación dando lugar a la aparición de succulentos aromas, y confiriendo a la carne un aspecto brillante, siendo ésta de gran calidad y muy valorada por los consumidores.

En la década de los 80, comenzaron a desarrollarse las Denominaciones de Origen Protegidas (DOP). Actualmente existen cuatro asociadas al cerdo ibérico en España (Figura I.6): DOP Dehesa de Extremadura, DOP Guijuelo, DOP Jabugo y DOP Los Pedroches. Las DOP se crearon para proteger de una forma legal al producto (jamones y paletas curadas), conservar la calidad del producto y el método de elaboración y, sobre todo, proteger al consumidor, para que los productos propios de cada zona, tengan las mismas características organolépticas y un estándar de calidad regulado (Amaya & Aguilar, 2012).

Se definen fundamentalmente dos regiones de producción extensiva. La región extremeña y la del sur de Castilla y León. La posición geográfica de dichas regiones influye, fundamentalmente, en el proceso de elaboración. Ya que, de forma general, está ligado a las condiciones climáticas de la zona. Así, en la región extremeña se alcanzan temperaturas más altas, motivo por el cual se acorta el

periodo de curación de los jamones y los aromas son más intensos. Sin embargo, en la región castellano-leonesa el tiempo de maduración es mayor, adquiriendo las piezas unos aromas más suaves y un menor nivel de salinidad (Martín Bejarano, 2001).



Figura I.6. Mapa de jamones con denominación de origen protegida (MAPA, 2017).

Tras la crisis de superproducción de 2008, el sector del cerdo ibérico sufrió en 2014 un periodo de transición. Se vio la necesidad de mejorar la pureza racial, evitar el posible deterioro del ecosistema, asegurar la alimentación de los animales con bellota, mejorar la calidad de los productos de los animales alimentados con pienso, mejorar la trazabilidad y el control y la información recibida por el consumidor. Fue por esto que en este año se publicó el nuevo Real Decreto 4/2014, por el que se aprueba la norma de calidad para la carne, el jamón, la paleta y la caña del lomo ibérico, y esto hizo que se haya ido regulando la producción (BOE, 2014).

La publicación de este Real Decreto supuso un cambio drástico en el sector y pasó de comercializar 6.014.584 piezas en 2015, a las 5.636.822 piezas de jamón

ibérico de 2020 (Figura I.7). Se comenzó a regular de forma más estricta desde la densidad de las explotaciones hasta la identificación y etiquetado de la carne y los productos curados derivados del cerdo ibérico.

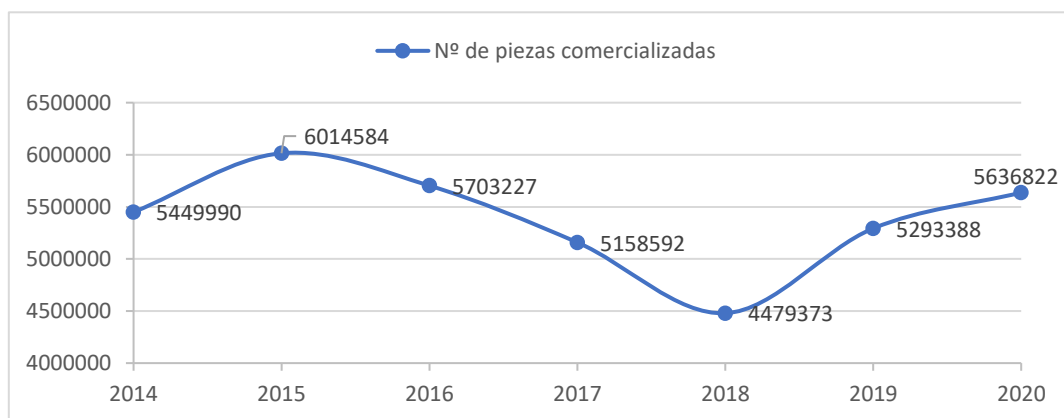


Figura I.7. Piezas comercializadas de jamones ibéricos desde la publicación del Real Decreto 4/2014 (RIBERMAPA).

A partir de este punto de inflexión se empezó a utilizar la identificación por colores dependiendo de la pureza racial de los animales y del sistema de alimentación. El código de colores seguido se muestra en la Figura I.8.

La alimentación que se haya seguido durante la cría del cerdo ibérico definirá la categoría comercial y, finalmente, el nivel de cotización de la carne y los productos cárnicos fabricados. La alimentación juega un papel fundamental en las características fisicoquímicas y sensoriales del producto final. Influye tanto en la jugosidad de la carne como en la composición de la grasa. Modifica la proporción de triacilgliceroles poliinsaturados que haría que la grasa fuese más fluida a temperatura ambiente y explicaría por qué los jamones de cerdos alimentados con hierba y bellota tienen más compuestos aromáticos (Tejeda et al., 2002; Virgili et al., 1998).

Por otro lado, la pureza racial definirá el tipo de producto e influirá en las características de la raza y sus parámetros productivos. Tradicionalmente, la raza del tronco ibérico se ha cruzado con cerdos de raza Duroc en porcentajes 50 o 75%. Este cruce aporta al cerdo ibérico un aumento de la prolificidad, mejora el

rendimiento a la canal, el peso al sacrificio y disminuye el engrasamiento mejorando la conformación magra (Lopez-Bote, 1998). Con carácter general, se cruzan hembras de raza 100% ibérica con machos con diferentes porcentajes de raza Duroc, ya que, aunque se ha descrito que es indistinto para la calidad de los jamones que el cruce con Duroc se haga en la hembra o el macho, se selecciona la pureza racial en la hembra para mantener así la genética de la raza ibérica (Fuentes et al., 2014).



Figura I.8 Precintos de clasificación por colores según alimentación y pureza racial para los jamones, paletas y lomos procedentes de cerdos ibéricos.

En España la producción total de cerdos ibéricos en 2021 fue de 3.000.859 cabezas de ganado. Extremadura ha sido la Comunidad Autónoma con mayor censo de cerdos ibéricos, seguida por Castilla y León, Andalucía, Castilla La Mancha y Murcia (Figura I.9). En los últimos años el sector porcino está siendo devastado por el aumento de casos de Peste Porcina Africana (PPA), una

enfermedad infectocontagiosa producida por un virus, caracterizada por la gran mortalidad que provoca y que cursa con fiebre y trastornos digestivos, respiratorios y nerviosos. En 1952 se notificaron los primeros casos de la enfermedad y se consideró erradicada en 1986 (Decisión 89/420/CE). El virus coloniza sangre y exudados de los animales enfermos, siendo muy activo, teniendo muchas variantes y causando la muerte de los animales aún con dosis muy pequeñas, incidiendo de manera más acusada a la cabaña adulta. La PPA se extiende con bastante rapidez en las explotaciones en régimen extensivo por lo que se teme por la integridad del sector del porcino ibérico si se reactivase la enfermedad en España. Esta enfermedad provoca en cualquier territorio grandes daños económicos, no sólo debido a la gran mortalidad que produce en los cerdos y la necesidad de sacrificarlos, sino también debido a la prohibición de exportar cerdos o productos derivados. En 1993, Mebus et al. demostraron que el proceso de curación del Jamón Serrano y del Jamón, la Paleta y el Lomo ibéricos inactivaba el virus y era seguro exportar y comercializar estos productos en los Estados Unidos. Actualmente, la gran afectación de la cabaña ganadera China por la Peste Porcina Africana ha hecho que se vean favorecidas las exportaciones de cerdo blanco.

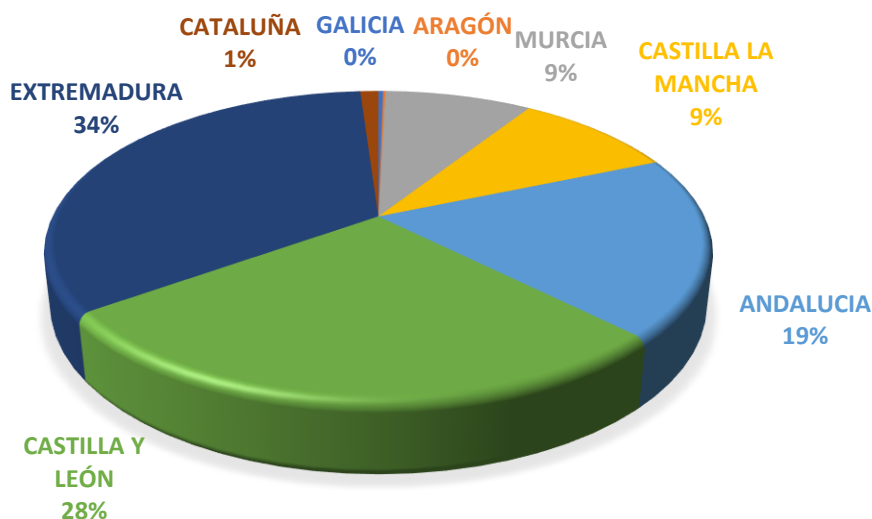


Figura I.9. Censo de cerdos ibéricos por Comunidades Autónomas. Año 2021. (MAPA).

El consumo de jamón ibérico per cápita en 2020 ha aumentado un 23% respecto a 2019 según los datos aportados por el Informe del Consumo de Alimentación en España (Anónimo, 2020). Pero el sector del ibérico se vio afectado por la crisis de la COVID-19, debido a la disminución del consumo en el canal HORECA, la minimización del consumo en los hogares por la pérdida de poder adquisitivo, la falta de turismo y la bajada de precios de hasta el 40%. Actualmente, el consumidor demanda, cada vez más, un producto menos salado, debido a las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y a la relación que tiene la sal con las enfermedades cardiovasculares. Además, con la reducción de sal conseguida en los últimos años, ha disminuido el umbral de percepción del sabor salado de la población, siendo mucho más sensibles al mismo y siendo necesario adaptar los productos a las nuevas formas de consumo (Ventanas, 2012).

I.2. INFLUENCIA DE LA RAZA EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS DEL JAMÓN CURADO.

El jamón curado tiene diferentes propiedades fisicoquímicas y bioquímicas dependiendo de la raza de cerdo de la que provenga (Cava et al., 2004). Existen diferentes formas de elaboración de jamón curado a partir de jamones de cerdos de diferentes razas. Así en España podemos encontrar el jamón ibérico y el jamón serrano, en Italia es característico el jamón de Parma, en Francia destaca el jamón de Bayona y en China los jamones propios de la región de Jinhua y Xuanwei.

La diferencia fundamental entre un jamón de cerdo blanco y un jamón de cerdo ibérico es la cantidad de grasa y su composición, además del mayor contenido en humedad de los jamones de cerdo blanco. Esto es resultado del genotipo racial y de la alimentación (Rosell & Toldra, 1998). Dentro de los jamones de cerdo blanco, también influirá la raza de los mismos. La raza Duroc aportará grasa infiltrada a la pieza y otras razas como Large White, Landrace o Pietrain, aportarán más porcentaje de carne magra.

A nivel bioquímico durante las reacciones de proteólisis en ambos tipos de jamón se observa una pérdida de solubilidad de las proteínas (Toldra, Miralles, et al., 1992), similar a lo que se ha observado en jamones como el de Parma (Zhou et al., 2021). En general, los jamones procedentes de cerdo blanco tiene una mayor

actividad proteolítica y lipolítica (Rosell & Toldra, 1998) hecho que puede estar relacionado con la más temprana edad de sacrificio (Candek-Potokar & Skrlep, 2012). Ésta será alrededor de los 8 meses para los cerdos de capa blanca y mínimo 10 meses en el cerdo ibérico. En los jamones de cerdo blanco existe una mayor actividad de catepsinas B, L y H, m-calpaína y lipasas. (Sarraga et al., 1993) describen que en razas con mayor contenido graso la cantidad de catepsinas es menor y, consecuentemente, la proteólisis es más lenta.

Con bajas concentraciones de sal, en el jamón blanco, la proteólisis se ve favorecida. Este efecto va disminuyendo durante las sucesivas etapas del curado debido a la mayor concentración de sal y por la acción del secado. Sin embargo, en el jamón ibérico, Cordoba, Rojas, et al., (1994), estudiaron la proteólisis con concentraciones de sal desde 1,5% hasta 6%, no observándose diferencias significativas entre ellas.

Según numerosos autores la actividad de las peptidasas es mayor en los jamones de cerdo blanco, excepto para la catepsina D, la alanyl aminopeptidasa y la dipeptidyl peptidasa III. En concreto, la mayor actividad de alanyl aminopeptidasa en el jamón ibérico (Rosell & Toldra, 1998) provocaría la mayor liberación de aminoácidos al final del proceso de elaboración que aportan sabores dulces y están relacionados con la mayor cantidad de compuestos aromáticos contenidos en estos jamones (Antequera et al., 1993).

La mayor actividad catalasa y superóxido dismutasa en el jamón ibérico protege a los ácidos grasos de la oxidación, confiriéndole una mayor estabilidad oxidativa y evitando que se desarrolle un aroma rancio (Fuentes et al., 2014). Esto podría explicar que los consumidores valoren más positivamente las características organolépticas de los jamones ibéricos frente a los de otros genotipos.

El proceso de elaboración también interfiere en las características fisicoquímicas y en el comportamiento bioquímico de los jamones. Los mayores niveles de ácidos grasos libres presentes en el jamón de cerdo ibérico (principalmente oleico y linoleico) parecen ser el resultado de un procesado más largo unido al mayor contenido de grasa intramuscular y los altos niveles de insaturación de la grasa de los jamones de esta raza, lo que favorecería la acción de las lipasas y estererasas (Rosell & Toldra, 1998).

I.3. JAMÓN CURADO Y SU PROCESO DE ELABORACIÓN

El proceso de curación del jamón blanco e ibérico (Figura I.19) es similar y durante muchos años se ha realizado de forma artesanal. Por eso es sorprendente que un proceso tan tradicional como el de curar un jamón, que ha pasado de generación en generación, cuente con una tecnología a la vez tan compleja y novedosa. El estudio y conocimiento de esas técnicas ancestrales ha permitido ajustar la cantidad de sal, la temperatura o el tiempo, para así obtener un producto más uniforme y con un menor porcentaje de alteraciones (Bello Gutiérrez, 2008).

El objetivo general es llevar a cabo una correcta salazón, ajustando al máximo sus niveles y, después, controlar el ascenso de la temperatura para que se desarrollen los compuestos implicados en el sabor y los precursores del aroma, alcanzando un tiempo óptimo de maduración del jamón y manteniendo la estabilidad del jamón (Ventanas, 2012).

Durante la recepción del pernil en fresco se determinan el peso, la temperatura, el pH y el nivel de grasa para controlar la calidad que debe cumplir la materia prima. El correcto mantenimiento de la temperatura de transporte y recepción evitará la multiplicación de microorganismos y, consecuentemente, los problemas de putrefacción que pudieran aparecer en la fase de maduración. La temperatura se mantiene siempre por debajo de los 6°C.

El pH de la carne indica la correcta evolución de la glicolisis anaerobia. Los valores óptimos de pH estarán entre 5,6 y 6,2. Valores de pH por debajo de 5,6 podrían estar relacionados con una acidificación demasiado rápida del músculo, que provoca la desnaturalización de las proteínas y la bajada de la capacidad de retención de agua. En estas condiciones aparecen las carnes PSE (Palid, Soft, Exudative) que darán problemas, sobre todo, a nivel de textura. Por otro lado, valores de pH por encima de 6,2 son debidos a unas escasas reservas de glucógeno antes del sacrificio que hacen que no se produzca prácticamente ácido láctico. Son carnes DFD (Dark, Firm, Dry). Estos valores de pH tan elevados permiten el crecimiento de microorganismos, patógenos o no, y hace que la carne tenga una elevada capacidad de retención de agua, por lo que la penetración de la sal se dificulta. El peso y el nivel de grasa dependerán del tipo y calidad de producto final que se quiera obtener (Arnau, 2007, 2013).

A continuación, se produce la estabilización térmica de los perniles en cámara para seguir con el sangrado manual de las piezas (Figura I.10). Se realiza presionando la pieza por su cara medial y desde la caña hacia la cadera, en la zona correspondiente a las arterias safena y femoral. Con este masaje se asegura la eliminación de la mayor cantidad posible de sangre que ha quedado de forma residual en los vasos del pernil tras el despiece y que podría provocar alteraciones durante el procesado.



Figura I.10. Sangrado manual del jamón (Fte. Elaboración propia).

Posteriormente, se realiza, en este caso también de forma manual, la nitrificación. Se frota sobre la cara muscular del pernil una mezcla de sal fina con sales nitrificantes (Nitrato E-250 y Nitrito E-252), dextrosa y antioxidante (80 g/pieza) y se masajea para dejar bien repartida la mezcla (Figura I.11). Este presalado con dichas sales hará que se controlen e incluso que se eliminen microorganismos patógenos presentes en el jamón como el *Clostridium botulinum*, *Enterobacterias* y *Listeria spp.* (Hospital et al., 2017) y que se garantice la seguridad de un producto que finalmente se almacenará a temperatura ambiente y durante un tiempo bastante prolongado. Además, las sales nitrificantes, y en particular el nitrito, también juegan un papel muy importante en las características organolépticas del jamón, ya que activan la formación de nitroxilmioglobina (NOMb), pigmento responsable de la coloración rojiza particular del jamón curado, le confieren el aroma característico a curado y actúa como agente antioxidante (Sebranek & Bacus, 2007).



Figura I.11. Aplicación de nitrificante a la pieza (Fte. Elaboración propia).

Tras la nitrificación, tiene lugar la salazón propiamente dicha, que se realiza en seco y donde se cubren los perniles con sal gruesa, previamente humedecida, durante 1 día/kg para jamones de cerdo ibérico y entre 0,65 y 0,8 días/kg para jamón serrano. Para conseguir un producto final de calidad, éste debe tener un punto de salinidad óptimo (Martín Bejarano, 2001), se ha de controlar la actividad enzimática y disminuir la actividad de agua (a_w) por debajo de 0,92, inhibiendo así el desarrollo de microorganismos que puedan alterar el producto e incluso que puedan ser patógenos para el consumidor. Se introducen en la cámara (Figura I.12) que se mantiene a una temperatura entre 0 y 3°C y a una humedad relativa (Hr) por encima del 95%, en contenedores de acero inoxidable formados por máximo 8 capas alternativas de perniles y sal (Figura I.13). Los perniles se colocan con la cara muscular hacia arriba y no se procede al volteo de los mismos. Antiguamente, se acostumbraba a salar en el suelo o sobre palets y se llevaba a cabo el volteo de las piezas para el correcto reparto y difusión de la sal (Figura I.14). El control de la etapa de salado es importante para conseguir el producto de la calidad deseada. Existen diferentes técnicas no invasivas que se han descrito para hacer un seguimiento de la difusión de la sal durante las etapas de salado y/o postsalado (Fulladosa et al., 2010; Picouet et al., 2013; Santos-Garces et al., 2010).



Figura I.12. Cámara de salazón (Fte. Elaboración propia).



Figura I.13. Recubrimiento de las piezas con sal en contenedores de acero inoxidable (Fte. Elaboración propia).



Figura I.14. Salazón de jamones sobre suelo (Fte. Elaboración propia).

Una vez superado el tiempo de salazón, los jamones son cepillados y lavados con agua clorada para eliminar los restos de sal de la superficie. Además, se ejerce sobre ellos una ligera presión mecánica para darles, sobre todo en el jamón ibérico, su característica forma alargada (“alimonado”) y permitir que el secado sea más homogéneo. A continuación, se dejan escurrir en cámara un periodo máximo de 24 horas.

El lavado de los jamones deja paso a la etapa de postsalado, también denominada fase de reposo (Figura I.15). Es quizá la fase más importante del proceso de curación, puesto que se produce la difusión de la sal de forma homogénea hacia el interior de la pieza y se debe encontrar el equilibrio entre la velocidad de deshidratación y la salida de agua desde el interior. Durante esta fase será necesario inspeccionar de forma periódica las piezas mediante un examen visual y por palpación para valorar si la deshidratación está siendo uniforme. Además, será muy importante controlar las condiciones de los secaderos para estabilizar las piezas y que no aparezcan defectos de humedad excesiva (remelo), encostramiento o deficiencias de textura en el centro de la pieza por falta de sal (Arnau, 2013). Esta vigilancia de los secaderos, además, ayudará a controlar la actividad enzimática de los perniles y el desarrollo de microorganismos que puedan provocar alteraciones. Las cámaras se mantienen a una temperatura entre los 0 y 6°C y a una Hr cercana al 80%. Los jamones ibéricos pasarán un mínimo de 90 días en esta etapa, alcanzando siempre el 17-18% de merma. Para la elaboración de Jamón Serrano se necesitarán mínimo 40 días de postsalado y que los jamones alcancen el 13-14% de merma. Con estas condiciones se asegura que la a_w de los perniles disminuye por debajo del 0,96 antes de comenzar a aumentar la temperatura de secado (Ventanas, 2012). Esto evitará un desarrollo anómalo de la proteólisis y se evitarán alteraciones microbianas.

Una vez alcanzada la merma deseada y terminada la fase de postsalado, empieza la etapa de secadero con una duración hasta los 210 días desde el inicio del proceso para el jamón ibérico y de 120 días en Jamón Serrano (Figura I.16). Esta fase se hace de forma tradicional en secaderos y bodegas no climatizadas, en el llamado “ciclo abierto”, dependiendo íntegramente de las condiciones climáticas naturales que se den en ese determinado momento. Esto hace que, para la elaboración de jamón ibérico curado, se definan dos zonas principales de

elaboración: zona norte (D.O. Guijuelo) y zona sur (D.O. Dehesa de Extremadura, D.O. Valle de los Pedroches y D.O. de Huelva).



Figura I.15. Perniles en fase de postsalado (Fte. Elaboración)

Sin embargo, la innovación tecnológica ha permitido reproducir dicha climatología de forma controlada. Durante esta fase se irá aumentando la temperatura de forma progresiva (1°C por semana) hasta alcanzar los 30°C , a la misma vez que se disminuye la Hr hasta el 60%. Éste último periodo donde se alcanzan las temperaturas más altas suele denominarse estufaje (Figura I.17). En las zonas en las que esta etapa se realiza de forma natural, el mantenimiento de la temperatura y la humedad relativa se consigue regulando la apertura y cierre de las ventanas. Este aumento de la temperatura provocará que se distribuya la sal de forma equitativa por toda la pieza y se desencadenen reacciones por las que se formarán compuestos volátiles o precursores del aroma y el sabor. En el transcurso de la etapa de secado, se untará la superficie del jamón con manteca de cerdo para evitar que la superficie se seque en exceso, apareciendo oquedades que puedan ser colonizadas por mohos y por los ácaros típicos del jamón (*Tyrophagus putrescentiae*)

(Garcia, 2004). Esta última fase se prolongará hasta que los jamones ibéricos alcancen una merma mínima del 31% (alrededor de 22 meses de curación) y 33% para los jamones serranos (con unos 8 meses de curación) (Ventanas, 2012).



Figura I.16. Fase de secado (Fte. Elaboración propia).

Esta fase es característica de los jamones curados españoles, pues en otras zonas geográficas no se eleva tanto la temperatura como en el proceso de curación del jamón serrano o el ibérico. En los jamones de Parma, por ejemplo, la fase de secado y maduración se lleva a cabo a temperaturas alrededor de los 18°C (Parolari, 1996).

El aumento de la temperatura ambiente desencadena la activación de compuestos responsables del color, del aroma y del sabor del jamón, consecuencia, a su vez, de las reacciones de Maillard producidas, de la proteólisis y de los procesos de degradación lipídica. Este calor inicial hace que las grasas con bajo punto de fusión impregnen con su aroma las fibras musculares. Este fenómeno es conocido como “sudado”. La composición de la grasa del jamón es muy importante. A mayor porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, se ha observado un mayor porcentaje de rancidez (Ventanas, 2012). Sin embargo, estos ácidos grasos también aportan mayor untuosidad y suavidad en boca a la grasa (Virgili & Schivazappa, 2002).



Figura I.17. Jamones en estufaje (Fte. Elaboración propia).

Otro factor que influye sobre las características organolépticas en esta fase es la presencia de levaduras como las de género *Debaryomyces* (Simoncini et al., 2015). Éstas contribuyen a preservar las propiedades sensoriales típicas del jamón curado y actúan como barrera biológica al desarrollo de mohos que podrían ser toxigénicos.

La fase final es la llamada Fase de Afinamiento o de Bodega. Esta fase se alarga mínimo hasta los 20 meses ya que el mayor contenido en grasa del jamón ibérico actúa como barrera a la desecación y soporta un mayor tiempo de secado. La aw del pernil habrá bajado de 0,90 y se garantizará así la conservación de la pieza a temperatura ambiente (Jay et al., 2005). La temperatura se mantiene a unos 15°C y la Hr entre el 50 y el 80%. Estas condiciones hacen que el producto adquiera una textura firme y jugosa con un característico sabor umami. Es importante cumplir con la duración de esta fase pues durante este tiempo se producirá el asentamiento de los compuestos responsables del sabor, aroma y flavor del jamón curado acabado. En el pernil ya madurado se producen reacciones de proteólisis que liberan compuestos de bajo peso molecular como los péptidos, los aminoácidos o las aminas. La oxidación de los ácidos grasos libres y de los lípidos desencadena la formación de hidrocarburos, ésteres cetonas, alcoholes y aldehídos. Estas reacciones evolucionan de forma lenta y confieren las características sensoriales propias al jamón ibérico (Ventanas, 2012).

Finalmente, se lleva a cabo un proceso de cala y selección de las piezas donde de forma individual se evalúa el nivel de maduración de cada jamón y el desarrollo de los aromas propios del producto. Para ello se utiliza el tacto y una cala hecha generalmente de hueso (Figura I.18).



Figura I.18. Cala y selección del jamón curado (Fte. Elaboración propia).

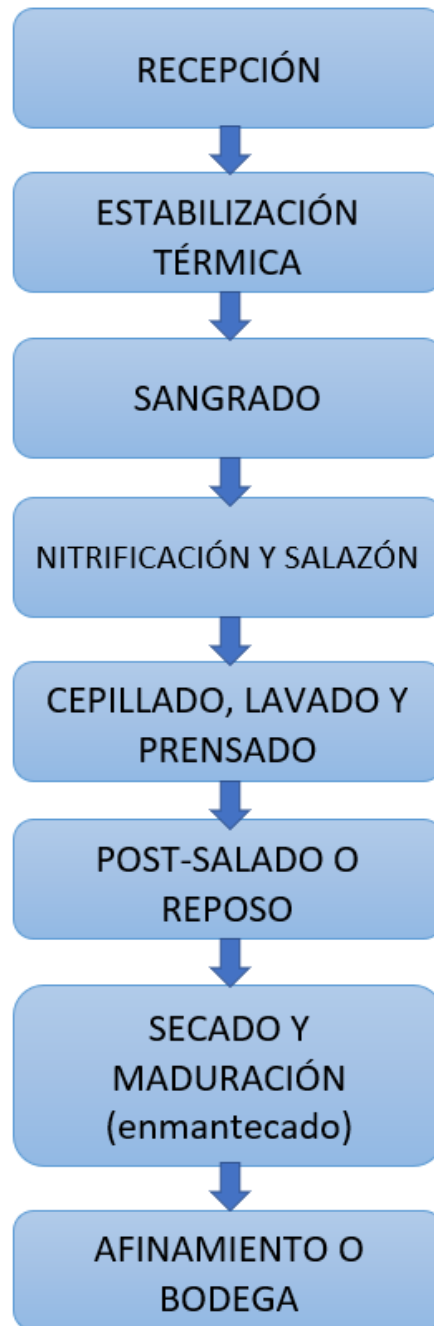


Figura I.19 Proceso de curación del jamón ibérico (Fte. elaboración propia).

I.3.1. Elaboración de jamón deshuesado en fresco

La elaboración de jamones deshuesados en fresco es propia de los países centroeuropeos, siendo el más conocido el “Speck Alto Adige” en Italia (Rossi et al., 2021). Esta técnica no está tan desarrollada en España y su forma de elaboración es diferente, pues se suelen utilizar especias como la pimienta, el enebro o el laurel o incluso recurrir al ahumado de las piezas (Lucarini et al., 2013).

La elaboración de jamón tipo speck requiere la eliminación de todos los restos óseos, el exceso de grasa y el tejido conjuntivo de la pieza. Se debe respetar la estructura muscular sin dañarla en exceso, pues podría favorecer la entrada de microorganismos y su posterior deterioro. También es necesario el sangrado de la misma para evitar posibles problemas microbiológicos y visuales del corte. Es importante que se desarrolle la capacidad funcional de las proteínas miofibrilares para la cohesión de la pieza, evitando así que se formen oquedades donde pueda quedar el aire y aparezcan puntos de putrefacción y pérdida de textura. Se ha descrito que se puede mejorar el rendimiento y disminuir el espacio y tiempo de curación debido a que la parte magra queda más expuesta y a que habría mayores pérdidas por evaporación (Kemp et al., 1980; Marriot et al., 1991; Moore et al., 2006; Wang, 2001). Algunos autores afirman que se necesitarían otros métodos adicionales para acelerar de forma sustancial el proceso, como salar en bombo, mediante agujas de inyección de salmuera o en bolsas de vacío (Arnau et al., 2007; Marriot et al., 1991).

El proceso de curado de jamones deshuesados difiere de los jamones curados reestructurados. Este término está destinado a definir aquellos jamones que pretenden simular a la pieza de carne íntegra pero necesitan de sistemas de cohesión en frío, como la enzima transglutaminasa (Romero de Avila et al., 2010) o un sistema fibrinógeno-trombina (de Avila et al., 2014) para que los diferentes músculos unan entre sí.

El deshuesado de jamones en fresco y su posterior curado confiere a la loncha un aspecto uniforme, sin huecos ni imperfecciones, dando una imagen estética, característica que define la totalidad de la pieza. Hace posible que el corte a máquina sea rápido y de gran utilidad tanto a nivel doméstico, como industrial o incluso en el lineal de venta. La distribución de la sal en la pieza es más uniforme

y desaparecen los problemas relacionados con la presencia del hueso como puede ser la coquera o defectos de “cala” (Kemp et al., 1980; Kemp & Fox, 1977). La coquera aparece en los jamones con hueso principalmente debido a las oquedades que quedan alrededor del foramen del obturador como consecuencia de la retracción muscular. Microorganismos como *Serratia*, *Proteus* o *Enterobacter* suelen ser los responsables de estos defectos (Martín Bejarano, 2001).

También se facilita el uso de ingredientes funcionales (Gomes et al., 2020), mejorando así el perfil nutricional del producto. Sin embargo, entre las desventajas, se describe la necesidad de controlar el exceso de desecación y las poblaciones de moho que pueden crecer en aquellos lugares donde se eliminó el hueso (Kemp et al., 1979).

La mayor superficie de exposición en los jamones deshuesados reduce la cantidad de sal que es necesario añadir (Kemp & Fox, 1977) y en los jamones reestructurados podría cambiar las características microbiológicas, aumentando en 2-4 log el recuento de aerobios mesófilos y bacterias ácido lácticas (Sadeghi-Mehr et al., 2016). A nivel sensorial, cuando se trata de jamones conformados, la mayoría de los panelistas suelen diferenciar estos jamones de los tradicionales, siendo los últimos los mejor puntuados (Sadeghi-Mehr et al., 2016).

Se ha estudiado la posible reducción de sal en jamones reestructurados combinando la utilización de lactato potásico y altas presiones (Fulladosa et al., 2009). Sin embargo, no se han encontrado estudios científicos en los que se caractericen los cambios composicionales, bioquímicos o sensoriales durante la elaboración de jamones curados reducidos en sal, deshuesados en fresco y procedentes de cerdo ibérico. Así mismo, tampoco se han encontrado en la bibliografía estudios similares en jamones serranos o de Parma.

I.4. IMPORTANCIA DE LA SAL EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL JAMÓN CURADO

La salazón ha sido un método de conservación utilizado por ser práctico, económico y sencillo. Tras heredar las costumbres egipcias, en Grecia utilizaban la sal para la curación de productos procedentes del cerdo. En la época precristiana, numerosos filósofos hicieron referencia a los beneficios del consumo de jamón

curado. En el siglo II a. C. avanzó la tradición artesanal desde el Imperio Romano hasta Hispania donde tiene los orígenes la elaboración de jamón curado con sal (Bello Gutiérrez, 2008).

La salazón en seco se ha considerado más uniforme y fuerte que la salmuera por encontrarse la sal pura en contacto inmediatamente directo con la carne, haciendo que se conserve inalterable durante un periodo de tiempo aceptablemente largo. El fundamento consiste en que la carne ceda gran parte del agua que contiene y ésta sea sustituida por el cloruro sódico evitando así la descomposición de la misma. Pero para que la sal pueda transferirse a través de la fase líquida del producto, primero tiene que solubilizarse y esto dependerá de la disponibilidad de agua en el mismo y de la rapidez con la que se diluyan los cristales de sal (García-Gil, Muñoz, Santos-Garcés et al., 2014). Las partes con grasa o piel ofrecerán menor disponibilidad de agua y el intercambio agua-sal será menor que en las partes magras, donde la disponibilidad de agua es mayor. Por otro lado, el tamaño de los cristales influirá en la velocidad de dilución de la sal de forma inversamente proporcional. A menor tamaño del cristal, mayor velocidad de difusión. Por esta razón, será importante que el tamaño del grano de sal sea lo más homogéneo posible en la mezcla de sal o sales. Hecho que se considera importante tener en cuenta cuando se añada sal nueva a la mezcla industrial.

La sal es un ingrediente esencial en el proceso de curación del jamón y, en algunos casos, como el jamón de Parma o de Trevélez, es el único ingrediente permitido según el pliego de condiciones. La etapa de salazón es la que determinará el contenido final de sal del producto y condicionará el comportamiento bioquímico de las piezas (Morales et al., 2007).

Aunque son muchas las propiedades tecnológicas de la sal, históricamente se ha utilizado en infinidad de alimentos como conservador. Actúa disminuyendo la a_w , así como la solubilidad del O_2 en el agua del producto (Barat & Toldra, 2011). De esta manera elimina o previene el sobrecrecimiento de microorganismos patógenos, influyendo en la vida útil del producto y en el modo de conservación (es posible su conservación a temperatura ambiente). El hecho de disminuir la cantidad de sal en el producto no va a modificar el número inicial de microorganismos, pero sí podría afectar al crecimiento y supervivencia de los mismos. Si se disminuye el contenido de sodio de algún alimento, habrá que

utilizar otras tecnologías, como las altas presiones o los ultrasonidos (US), para asegurar la estabilidad microbiológica durante el periodo de vida útil de estos productos (Inguglia et al., 2017). Otras estrategias que suplen el déficit de sal y ayudarían a conservar los alimentos reducidos en sal son el uso de cultivos protectores y extractos naturales de plantas, la adicción de aceites esenciales (aunque habría que valorar el aporte de sabor al jamón) y las proteínas antimicrobianas (Barat & Toldra, 2011).

El sabor es otro de los atributos que aporta este ingrediente. Lo potencia y desencadena reacciones de oxidación lipídica (Lorido et al., 2015). El sabor salado es uno de los primeros sabores que se detectan debido a que la sal se disuelve y difunde fácilmente por el poro gustativo de las papilas filiformes. Esto hace que se estimulen más las papilas gustativas a diferencia de lo que ocurre con las moléculas grandes como son las proteínas. Por lo que, con la disminución del contenido en sodio podría parecer que al alimento le falta sabor. Pero, por otro lado, cuando la concentración de sal es muy elevada, la degradación de los lípidos aporta sabores jabonosos y asardinados (Bess et al., 2013).

La textura, atributo fundamental para obtener un producto de calidad, es también una característica afectada por la concentración de sal. Ésta aumenta la capacidad de retención de agua, solubiliza las proteínas (actina y miosina) y activa las enzimas proteolíticas; además de tener capacidad funcional para solubilizar las proteínas miofibrilares, necesaria para aumentar la adherencia y la cohesión de los productos cárnicos transformados, haciendo que la falta de sal pueda afectar seriamente la dureza (Inguglia et al., 2017; Lorido et al., 2015). La viscosidad del magro aumenta debido a la solubilización de las proteínas (Desmond, 2006). (Andres, Cava, Ventanas, Muriel, et al., 2004) describieron que, en jamones con menor contenido de sal, podrían darse defectos de dureza, fibrosidad y sequedad. Como se ha indicado anteriormente, la sal afecta a la solubilidad de las proteínas (actina y miosina) y modula la acción de las enzimas proteolíticas, como son las catepsinas y calpaínas. Impiden que se descontroren y aparezcan jamones con textura blanda. La sal aumenta la concentración iónica, favoreciendo la ligazón de las proteínas y mejorando la textura del producto (Ruusunen & Puolanne, 2005; Toldra, Aristoy, et al., 1992).

Por último, se ha observado que la reducción del contenido en sodio puede favorecer las reacciones de lipólisis, influyendo en la liberación de compuestos volátiles, viéndose afectada la percepción del aroma y el flavor (Andres et al., 2005).

I.5. PREOCUPACIÓN DE LA POBLACIÓN POR EL CONSUMO DE SODIO

El consumo diario de sal excede los 5g diarios recomendados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en casi todos los países. Una dieta rica en sodio está relacionada con una mayor incidencia de aumento en la presión arterial y, consecuentemente, de enfermedad cardiovascular, entre otras enfermedades (Wang et al., 2020).

El 72% del sodio que se consume a diario proviene de los alimentos procesados y platos preparados, el 20% procede de la sal añadida a las comidas y el 8% se presenta de forma natural en los alimentos. Así, la estrategia que se ha seguido se centra fundamentalmente en reformular los grupos clave de alimentos e incrementar la sensibilización por medio de campañas públicas. Los grupos de alimentos que más sal aportan a la dieta de los españoles son los embutidos, el pan y los panes especiales, los quesos y los platos preparados. Pero no hay que mirar sólo la cantidad de sal que aportan los alimentos, sino también su frecuencia de consumo. Aquellos alimentos que contienen más sal no tienen por qué ser lo que aportan más sodio a la dieta si no se consumen de forma habitual.

El Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad a través de la AESAN lanzó en 2005 la estrategia NAOS (Nutrición, Actividad Física y Prevención de la Obesidad) y a nivel europeo se desarrolló a finales del año 2008 un Plan de Reducción del Consumo de Sal (PRCS) en la población. Con el lanzamiento de este plan cada Estado Miembro se comprometía a reducir a sal en un 16% en todas las categorías de alimentos, contando con un periodo de 4 años. La finalidad era reducir la morbi-mortalidad a consecuencia de la hipertensión arterial y de las enfermedades cardiovasculares relacionadas con el consumo de sodio. El objetivo era alcanzar de forma progresiva las recomendaciones de la OMS respecto a la ingesta diaria de sal en la población. Por aquel entonces, el consumo medio de sal era de 10g/día. Bajo esta iniciativa, se lanzaron diferentes planes de reducción de sodio en alimentos clave, entre ellos, los productos cárnicos. A pesar de que el

jamón serrano era uno de los productos que estaba dentro del Plan de Reducción de sal (Figura I.20.), el jamón curado fue excluido de los análisis de los productos cárnicos debido a que es un producto de gran diversidad (raza, peso, alimentación, manejo) y variabilidad natural de la materia prima y de su comportamiento y capacidad de absorción de sal y, además, la sal es inherente a su naturaleza. En la última actualización de 2020, no se ha publicado propuesta, pues están a la espera de llegar a un consenso. Pero se espera de forma inminente. En 2009, los valores más bajos de sal en el jamón curado estaban en torno a los 4,5 g/100g, teniendo un valor máximo de 7,81g/100g.

Compromiso de reducción de sal		
Productos testigo	Valores de partida* (Datos 2012-2014)	Compromiso de reducción del 10% de la sal en 4 años* (2016-2019)
Jamón curado	6,5	5,9
Chorizo / Salchichón	4,8	4,3
Longaniza fresca	3,0	2,7

* Contenido de NaCl /100 g de alimento

Figura I.20. Compromiso para la reducción de sal y grasa en los derivados cárnicos (v 4.2) (ANICE,2016).

Pero sin duda, el consumidor y la Administración siguen avanzando y están empezando a utilizarse modelos de etiquetado nutricional frontal que penalizan el exceso de sodio. Así que la reducción de sal en el jamón curado sigue siendo un objetivo perseguido por las empresas del sector.

I.6. MÉTODOS PARA REDUCIR EL SODIO EN EL JAMÓN CURADO

La continua preocupación de las autoridades para reducir el consumo de sodio en la población, debido a lo expuesto en el punto anterior, ha hecho que se desarrollen numerosos métodos de reformulación de los productos alimenticios,

entre ellos, los productos cárnicos. Pero cualquier cambio de fórmula para reducir la cantidad de sodio tiene que ir precedida de una valoración de la aceptabilidad mediante un análisis sensorial y un estudio de las propiedades fisicoquímicas y de estabilidad del producto, debido a la importancia que tiene la sal en el proceso de elaboración de productos cárnicos.

Reducir el sodio de los alimentos no es una tarea fácil. En el caso concreto del jamón curado, es complejo mantener la estabilidad microbiológica y las características sensoriales del producto cuando se reduce la sal. La dificultad está en que la pieza debe mantenerse intacta, como ocurre como el lomo curado, y la sal deberá aplicarse sobre la superficie para que después difunda hasta el interior (Barat et al., 2013). Benedini et al., (2012) aseguraron que, para alcanzar un 25% de reducción de sal, será necesario alargar el proceso de curación y controlar los fenómenos de proteólisis.

Por otro lado, los consumidores están acostumbrados a un determinado sabor salado. La percepción de este sabor salado depende de la diferencia de concentración de sodio entre el alimento y la saliva (Ventanas, 2012). Así, para que el consumidor acepte la disminución del contenido de sodio, se tiene que reeducar su umbral de percepción del sabor salado e ir disminuyendo la concentración de sodio en la saliva de forma paulatina; y esto se consigue disminuyendo de forma progresiva la cantidad de sodio que se consume con los alimentos. La AESAN, marcó como objetivo la reducción del consumo de sal en 5g/día a lo largo de 20 años utilizando campañas de sensibilización, reeducando a la población y mediante la reformulación de determinados alimentos.

Además, existen factores que pueden influir en la cantidad de sal que difunde en la pieza. Dentro de los factores intrínsecos se encuentran el pH del jamón fresco, la superficie magra de exposición, el nivel de engrasamiento y la composición de la grasa, la temperatura de entrada en sal y si los jamones han sido previamente congelados o no. Por otro lado, los factores extrínsecos que afectan a la captación de la sal son: la temperatura y humedad relativa de la cámara de salado, la granulometría y humedad de la sal, el tiempo transcurrido entre el sacrificio y la entrada en sal, la tecnología empleada para salar y el tiempo de postsalado (Pinna et al., 2020).

Los primeros estudios que pretendían reducir el contenido en sodio de los productos cárnicos datan de los 80 (Leak et al., 1987; Seman et al., 1980). El desarrollo y perfeccionamiento de los sistemas de refrigeración ayudaron a reducir la cantidad de sal que era necesaria para conservar los alimentos, pero la estrategia que, sin duda, más éxito ha tenido ha sido la sustitución por otras sales cloradas, en concreto por sales de potasio. Se aprovecha uno de los canales epiteliales para la detección sensorial del sodio que es permeable a otros cationes. A través de este canal, cationes de menor diámetro iónico como el Na^+ o el Li^+ producen estímulo salino mientras que cationes con mayor diámetro como el K^+ , Ca^+ o Mg^+ producen estímulos salinos y amargos (Iiyama et al., 2001).

Como se ha apuntado, el sustituto que más se ha usado es el cloruro de potasio (KCl). Se ha comprobado que tiene un efecto antimicrobiano similar al del cloruro sódico (NaCl). El reemplazo parcial máximo del 50% de NaCl por KCl en el jamón curado sería posible manteniendo unos atributos fisicoquímicos y sensoriales aceptables (Armenteros et al., 2012; Frye et al., 1986; Iiyama et al., 2001). Al utilizar concentraciones superiores al 50% se aumenta la intensidad del sabor amargo y aparecen defectos de textura, por lo que los estudios sensoriales serán muy importantes una vez que el producto esté consolidado. La actividad proteolítica también se ve afectada pues, a pesar de que se demostró que el NaCl y el KCl producen una inhibición similar de las catepsinas B, B+L y H (Armenteros, Aristoy, & Toldra, 2009), en un estudio posterior se observó que hubo una disminución de la actividad de las catepsinas B y B+L más repentina durante los primeros días de postsalado cuando se utilizaban sales de potasio al 50% (Armenteros et al., 2012).

Otros estudios han descrito los resultados de la utilización de otras sales como el CaCl_2 y el MgCl_2 para la salazón del jamón, concluyendo que se ven afectados todos los atributos sensoriales recibiendo puntuaciones más bajas (Armenteros et al., 2012; Barat et al., 2013). Una de las razones podría ser que estas sales divalentes tienen un índice de difusión menor que las sales de sodio o potasio, lo que hace que aumente la a_w del producto. Esta característica hace necesario que la fase de postsalado tenga una mayor duración para conseguir que los cationes lleguen al interior de la pieza y evitar así posteriores problemas de textura (Barat et al., 2013). Además, con la utilización de estas sales, se observa una lipólisis

ligeramente superior y una menor inhibición de la lipasa ácida (Ripolles et al., 2011), lo que haría necesario un control exhaustivo de la cantidad de sales añadidas para controlar el sabor final del jamón curado reducido en sodio.

En Corea se salaron, con resultados satisfactorios, cortes de jamón curado sustituyendo el 50% del NaCl por polvo de Glasswort (*Salicornia herbácea* L.) junto con otras especias (Seong et al., 2017). A pesar de la reducción de sal conseguida, los panelistas no detectaron diferencias en el color, el sabor o la aceptabilidad del producto final.

En los jamones ibéricos se ha estudiado la posibilidad de salarlos dentro de bolsas (Girón et al., 2018). Este procedimiento ayudaría a controlar la concentración de sal en la salmuera y mejorar la difusión de la sal hacia el interior de la pieza. Sin embargo, son necesarios más estudios en este aspecto pues observaron que la aceptación por el consumidor era menor y que además era necesario buscar una alternativa a las bolsas de plástico, bien sea con material reutilizable o biodegradable.

La disminución del tiempo de salado junto con la cantidad de sal añadida ha sido una alternativa posible en jamones italianos (Pinna et al., 2020). En los jamones italianos se ha conseguido disminuir el contenido final de NaCl en un 29%, aunque se ha visto que aumenta la proteólisis y la incidencia de texturas blandas. Esta alternativa ya había sido estudiada en jamones curados en la Isla de Córcega en los que se observó que la reducción del tiempo de salado y, consecuentemente, el contenido en NaCl, reducían la oxidación de los lípidos mejorando los sabores desagradables relacionados con este fenómeno (sabor rancio, excesivamente graso...). Esto produjo a su vez, que el aroma a jamón curado fuera menos intenso (Coutron-Gambotti et al., 1999). En jamón curado ahumado también se ha comprobado que la reducción del tiempo de salazón también es una opción para reducir el contenido en sodio (Martuscelli et al., 2015). Estos autores observaron que en los jamones ahumados con menor contenido en sodio la intensidad del sabor era menor y la masticación era más difícil. Por otro lado, en jamones reestructurados la utilización de lactato potásico solucionó los problemas observados al reducir la cantidad de sal añadida a estos jamones curados (aumento de la aw, de la proteólisis y de las texturas blandas) (Costa-Corredor et al., 2009). Recientemente, en jamón curado esloveno Kraški también se observó un aumento

de la proteólisis cuando se redujo el tiempo de salazón, traducándose en problemas de textura y color (Tomazin et al., 2020). Sin embargo, no existen estudios que valoren si la reducción del tiempo de salazón permite disminuir la cantidad de Na en los jamones deshuesados en fresco y posteriormente curados.

En el IRTA de Monells (Girona) se han realizado estudios en los que se han utilizado rayos-X para predecir el contenido de sodio de los jamones con pata después de la etapa de salado. Esto permitiría reducir el contenido en sal del producto final si se utiliza esta tecnología para modificar el proceso de salazón en función de las características de la pieza y de la cantidad de sal absorbida, “personalizando” así el proceso de curación (Fulladosa et al., 2015). Entre las técnicas de irradiación, la tomografía computerizada (TC), de la que hay estudios en jamón desde 1987, se ha utilizado para predecir la composición de la carne o para determinar la distribución de sal en la carne y el contenido final. Las últimas investigaciones proponen utilizar la TC para monitorizar la fase de reposo o postsalado de los jamones reducidos en sal. Se podría establecer cuál sería el tiempo óptimo que los jamones deberían permanecer en esta fase para que el producto final fuese lo más homogéneo posible (Perez-Santaescolastica et al., 2019).

Por otro lado, los US, además de alargar la vida útil de los productos con reducción de sal, pueden ayudar en la etapa de salazón a que haya una mejor distribución de la sal en la pieza cárnica (Alarcon-Rojo et al., 2015).

No se ha estudiado la reducción de sal en jamón, ni blanco ni ibérico, deshuesado en fresco y posteriormente curado, ni cómo afectaría dicha reducción a sus características composicionales, químicas, bioquímicas y sensoriales.

I.7. OTROS PRODUCTOS CÁRNICOS REDUCIDOS EN SAL

La Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) dentro de la Estrategia para la nutrición, actividad física y prevención de la obesidad (Estrategia NAOS) ha publicado un plan de colaboración con las empresas del sector alimentario para mejorar la calidad de la dieta y concienciar a los consumidores de la relación entre los alimentos y la salud. Proponen reformular algunos alimentos para mejorar el contenido de ciertos nutrientes entre los que se

encuentra la sal. En la Tabla I.1 se muestra el porcentaje de reducción de sal propuesto para los diferentes derivados cárnicos:

Tabla I.1. Contenido basal (2016) y objetivos de reducción (2020) en las subcategorías de alimentos incluidas en el PLAN. (Fte. Plan de colaboración para la mejora de la composición de los alimentos y bebidas y otras medidas 2020).

Derivados cárnicos	Contenido mediano de sal (g/100g)	
	2016	2020
Chorizo vela extra	3,9	3,50
Jamón cocido extra	2,3	1,93
Longaniza fresca	3,0	2,52
Pechuga de pavo	2,2	1,85
Salchicha/ mortadela	2,6	2,18
Salchichón vela extra	3,9	3,50

Sin embargo, aunque no aparezcan otros productos cárnicos en esta propuesta, la industria y la comunidad científica siguen avanzando en ellos para estudiar cómo afecta la reducción de sodio a las características fisicoquímicas y sensoriales y mejorar así el perfil nutricional de estos productos cárnicos.

Así, en el lomo curado se ha estudiado de forma amplia la reducción del contenido de sodio utilizando sustitutos como las sales de potasio o magnesio y calcio (M. Alino et al., 2010; Alino et al., 2009; Armenteros, Aristoy, Barat, et al., 2009) o combinando este sistema con el uso de bolsas permeables al vapor de agua (Fuentes et al., 2018). A pesar de que la reducción del NaCl por KCl en un 50% no modificaría la cinética de salado (Alino et al., 2009), es importante prestar especial atención a la humedad relativa y la temperatura del proceso para evitar el encostrado de las piezas, pero, en general, permiten la reducción de sodio obteniendo un producto con características fisicoquímicas similares a las de aquellos tradicionales y sin afectar a la calidad microbiológica.

En los embutidos curados como el chorizo, el salchichón o el fuet, también se ha estudiado la reducción de los niveles de sodio para mejorar el perfil nutricional. Como en los anteriores, la estrategia con mejores resultados ha sido la sustitución parcial del NaCl por sales de potasio (Desmond, 2006) y muchos de estos estudios

se combinan con la reducción del contenido en grasa (Safa et al., 2015). En el chorizo la utilización de una combinación de sales marinas permitió la reducción del contenido en sodio en más de un 30% y obteniendo unas buenas puntuaciones en el panel de consumidores a pesar de que la coloración fue más oscura (Tejada et al., 2021).

La sustitución del NaCl por sales de potasio en un 40% fue posible en tocino salado y curado, no observándose diferencias significativas en el contenido en humedad, el índice de proteólisis, en el nitrógeno peptídico o en el aminoacídico (Wu et al., 2014). Además, en este mismo estudio, tampoco se vieron afectadas las características organolépticas. Sin embargo, al aumentar la reducción de sodio (70% sustituido por KCl), se observó un mayor contenido en humedad y una reducción de la dureza, así como mayor jugosidad y amargor del producto final.

En cecina de ciervo curada en seco sí fue posible la sustitución del NaCl por KCl en hasta un 70%. El panel de consumidores no detectó diferencias significativas entre la muestra control salada 100% con NaCl y la fórmula sustituida por KCl (Vargas-Ramella et al., 2021). Por otro lado, en cecina de potro también se utilizaron sales de K, Ca y Mg para sustituir el Na. El tratamiento de sustitución no modificó los parámetros de textura y aumentó el contenido en AAL. La utilización de sales de Ca y Mg aumentaron la oxidación lipídica y la luminosidad y disminuyeron el color rojo de las muestras (Cittadini et al., 2020).

En las paletas curadas de cerdo no se ha profundizado demasiado en la influencia de la reducción del contenido de sodio encontrando sólo un estudio que determina en el lacón cómo afecta la reducción del tiempo de salazón en los compuestos volátiles (Purrinos et al., 2012). En este estudio, describieron que la reducción del tiempo de salazón y, consecuentemente, del contenido de sal, afecta directamente a la generación de compuestos volátiles, disminuyendo significativamente su contenido. Lorenzo, Bermudez, et al., (2015) determinaron que se podía sustituir de forma satisfactoria el NaCl por otras sales cloradas en este producto cárnico.

El glicerol ha sido utilizado como agente mediador para la curación de productos cárnicos reducidos en sal (Liu et al., 2022). El glicerol actuó cambiando el medio en el que se disuelve la sal y, tras estudiar el proteoma del lomo curado,

se observó que no sólo se reduciría el contenido en sal sino también el contenido de agua del producto, así como la dureza.

El uso de sales no cloradas está más extendido en los productos cárnicos cocidos (Vidal et al., 2021). Aditivos como el fosfato, proporcionan sabor salado a la vez que mejoran el rendimiento de las piezas. En jamones cocidos reducidos un 50% en NaCl y añadiendo 0.8% de L-Lisina (L-Lys) se mejoraron las propiedades de cocción y la textura (Guo et al., 2020). Estudios muy recientes proponen utilizar los aminoácidos como sustitutos del NaCl para productos cárnicos y de pescado. Se combinarían con sales de cloruro, extracto de levadura y otras sales (Zhang et al., 2022). Por otro lado, en productos cocidos también se ha llevado a cabo la sustitución parcial de NaCl por otras sales y, en la actualidad, se propone combinar el uso de estas sales metálicas con otras tecnologías no invasivas (llamadas “green technologies”) para reducir el uso de NaCl y combatir los posibles efectos que pudieran derivar del uso de dichas sales. Las tecnologías más utilizadas son los US y las Altas Presiones Hidrostáticas (HHP – High Hydrostatic Pressure) (Pateiro et al., 2021). Los US se han combinado durante la salazón de productos cárnicos cocidos para mejorar la difusión de la sal y reducir así su contenido. Podemos encontrar combinaciones con US durante la inmersión en salmuera, el marinado o el cocinado. En productos cárnicos curados, los US podrían acelerar el proceso de curación (Gomez-Salazar et al., 2021).

Otros métodos abarcan el uso de potenciadores del sabor o la utilización de compuestos que aportan un sabor salado como el glutamato monosódico (Albarracin et al., 2011). Aporta sabor umami y mejora la palatabilidad y la aceptabilidad de los productos cárnicos, pero no está bien aceptado por los consumidores y está asociado a la aparición de determinadas enfermedades. El uso de extractos de levaduras o algas está más extendido en los productos cárnicos, debido a que es más fácil su integración en la mezcla. Se tendrá que estudiar muy bien la dosis de uso debido a que puede afectar al sabor (Quitral et al., 2019).

También se ha descrito como método el cambio en el tamaño o la forma del grano de sal (Inguglia et al., 2017). Anteriormente, se había descrito en este trabajo que granos más pequeños de sal tienen un mayor coeficiente de difusión. Esto ocurre igualmente en la saliva, por lo que será necesario un menor contenido en

granos finos de sal para producir el mismo estímulo de sabor salado. Una vez más, esta estrategia es más fácil de implementar en los productos cárnicos.

I.8. USO DE NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA MANTENER LA ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS REDUCIDOS EN SAL.

Para evitar el sobrecrecimiento de microorganismos en los productos en los que se ha reducido la sal y prolongar su vida útil se han utilizado HHP (Ros-Polski et al., 2015). En general, se utilizan para eliminar o inactivar microorganismos patógenos. Uno de los más importantes es *Listeria Monocytogenes* (Garcia-Gil, Santos-Garces, Fulladosa et al., 2014). Las HHP desnaturalizan las proteínas, inactivan enzimas e incluyen cambios en las interacciones enzima-substrato, además de modificar carbohidratos y grasas. Esto provoca que las bacterias sean más vulnerables a las condiciones hostiles y esto limita su crecimiento (Aymerich et al., 2008). Por otro lado, se podrían combinar con otras estrategias ya que también podrían ayudar a modificar la textura para evitar la aparición de jamones con textura blanda (Coll-Brasas et al., 2019). El tratamiento con HHP podría aumentar la dureza, la fibrosidad y la gomosidad, a la vez que disminuye la pastosidad y adhesividad de los jamones curados (Fulladosa et al., 2009).

Los US se han utilizado generalmente en combinación con altas temperaturas, lo que provocaría una alteración de los productos cárnicos curados, pero se podrían combinar con presión en un nuevo concepto de tratamiento antimicrobiano (Alarcon-Rojo et al., 2015). La combinación de US de alta potencia con dióxido de carbono supercrítico se ha utilizado para inactivar la microbiota del jamón curado y prolongar su vida útil. Este tratamiento produjo una reducción de la grasa y ablandamiento del jamón debido a la rotura de fibras musculares y al aumento de los espacios interfibrilares. Sin embargo, no se observaron diferencias en el color, la textura o el pH del producto final almacenado (Castillo-Zamudio et al., 2021).

I.9. FENÓMENOS DE DEGRADACIÓN DE LOS LÍPIDOS EN EL JAMÓN IBÉRICO

Durante la fase de maduración del jamón ibérico curado se producen cambios químicos y bioquímicos que modifican la composición lipídica de la materia prima. La oxidación sufrida por las grasas es muy intensa y da lugar a la formación de la mayoría de los compuestos volátiles que serán los responsables del aroma característico del jamón, un atributo considerado de calidad.

La lipólisis (Figura I.21) es una reacción enzimática que se produce vía lipolítico-oxidativa durante la curación del jamón. Es un proceso multifactorial que se ve altamente influenciado por el alto contenido en grasa intramuscular del jamón ibérico (8-10%), así como por su composición (normalmente elevada en ácidos grasos monoinsaturados). También influye la duración y la temperatura alcanzada durante el proceso y el contenido de sal de la pieza.

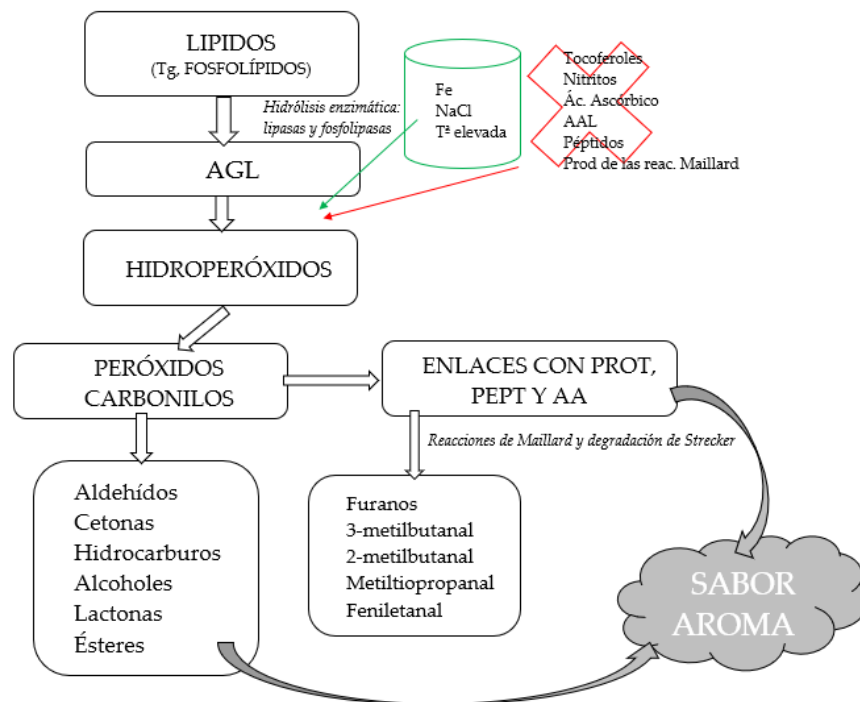


Figura I.21 Vía lipolítico-oxidativa durante el secado y maduración del jamón ibérico. Formación del sabor y el aroma. (Elaboración propia).

Las lipasas y fosfolipasas hidrolizan los enlaces ésteres desprendiendo los ácidos grasos (AG) de la molécula de glicerol, produciendo así su liberación. Los AGL proceden de los triacilglicéridos, aunque en el jamón ibérico, gran parte también procede de los fosfolípidos. Aquellos que se liberan en concentraciones más elevadas son los ácidos grasos saturados láurico (C12:0), mirístico (C14:0), palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0). Su evolución dependerá del grado de acidez, ya que la lipasa ácida microsomal, una de las lipasas más importantes del músculo, tiene un pH óptimo de actuación entre 4,5 y 5,5. Los ácidos grasos poliinsaturados linoleico (C18:2), linolénico (C18:3) y araquidónico (C20:4) son los que descienden en mayor concentración a lo largo del proceso de curación, pero (Antequera et al., 1993) describieron que, como consecuencia de los factores antioxidantes, al final del proceso se produce un aumento de la concentración de ácidos grasos insaturados como son el oleico y linoleico. Estos últimos son el principal sustrato de las reacciones de oxidación y las siguientes dependerán del equilibrio entre precursores oxidativos (como pueden ser el hierro, la concentración de sal y las temperaturas elevadas) y aquellos con actividad antioxidante (tocoferol, ácido ascórbico, aminoácidos libres, nitritos, péptidos y productos secundarios de las reacciones de Maillard) (Frankel, 1984).

En las primeras fases de la oxidación se forman radicales libres que darán paso a la propagación de hidroperóxidos. Estas moléculas, inestables y reactivas, no tienen una alta repercusión en las características organolépticas del jamón ibérico, pero serán el origen de los productos secundarios de la oxidación. El resultado llevará a la ruptura de los hidroperóxidos en moléculas de más volátiles, los peróxidos, que a su vez darán lugar a los carbonilos, que son compuestos de bajo peso molecular y responsables del sabor y aroma desarrollado en el jamón. Los más importantes son los aldehídos, sin obviar la formación de otros como las cetonas, los alcoholes, las lactonas o los ésteres (Narvaez-Rivas et al., 2012).

La mayor producción de estos compuestos se da en las fases iniciales en las que la temperatura se mantiene más baja (final de postsalado). Esta temprana producción de compuestos volátiles podría invitar a pensar que provocará un enranciamiento del producto por la continua oxidación y acumulación de olores o sabores desagradables. Sin embargo, este proceso pasa de ser prooxidante a antioxidante favorecido por el aumento de temperatura durante la fase de secado

y maduración. Una característica propia del proceso de elaboración del jamón ibérico curado. Se produce una liberación más lenta de carbonilos que resultarán en las moléculas que permanecerán de forma definitiva en el producto final. Además, se acumulan compuestos no volátiles de bajo peso molecular, como los péptidos, la acción de los productos de las reacciones de Maillard y la presencia de mohos que podrían ser antioxidantes (Martin et al., 2006). Ya en las últimas fases vuelven a aumentar los niveles de aldehídos volátiles pero la oxidación en este caso es menos intensa.

I.10. TRANSFORMACIÓN DE LOS COMPUESTOS NITROGENADOS EN EL JAMÓN IBÉRICO

La proteólisis, o transformación de los compuestos nitrogenados, es el proceso por el cual actúan las enzimas musculares endógenas (catepsinas B, D y L, calpaínas I y II, catepsina H y el proteasoma) incidiendo sobre las proteínas solubles, mayoritariamente miofibrilares, produciendo su ruptura y degradándolas en compuestos más pequeños como son los péptidos y, posteriormente, en aminoácidos libres, afectando a la textura, el aroma y el sabor del producto final. La proteólisis se ve afectada, fundamentalmente, por el pH de la carne, el contenido en sal, la humedad y las características propias de la materia prima (Zhou et al., 2021).

La presencia de sal en el jamón provoca la pérdida de solubilidad de las proteínas que hace que disminuya la capacidad de retención de agua del músculo. Esto favorece la desecación y, por tanto, contribuirá a la aparición de texturas más consistentes. Se ha demostrado que jamones con un mayor contenido en sal, presentan una menor humedad y unos valores más bajos de terneza debido a esa pérdida de la capacidad de retención de agua por la presencia de altas concentraciones de sal (Andres, Cava, Ventanas, Thovar, et al., 2004). De forma general, las calpaínas registran una mayor actividad en el pernil fresco, hecho que favorecerá la acción de otras enzimas posteriores. Las catepsinas son de gran importancia porque favorecen la aparición de fragmentos proteicos de tamaño intermedio y tienen un claro efecto sobre la textura, que podría ser perjudicial a nivel sensorial en el caso de que haya un exceso de actividad de las mismas

apareciendo texturas pastosas (Virgili et al., 1995) e incluso favoreciendo la formación de cristales de tirosina en la superficie de corte del jamón.

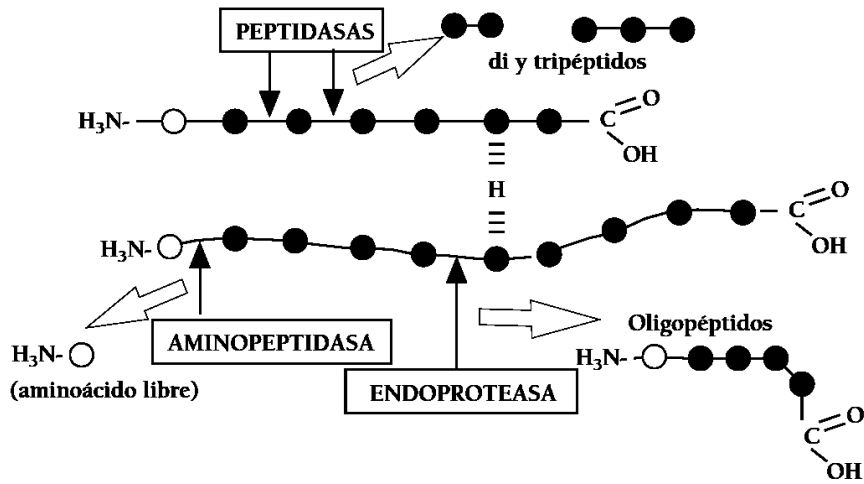


Figura I.22 Esquema de actuación de los enzimas proteolíticos (Arnau & Monfort, 1998).

Además de por la concentración de sal, la proteólisis está influida por la desecación y por la temperatura de secado. A medida que la concentración de sal aumenta en la pieza, va reduciendo la solubilidad de las proteínas y dificultando su extracción. Junto con el aumento de concentración de solutos, la mayor desecación de la pieza a lo largo del proceso hace que disminuyan las interacciones proteína-agua, para aumentar las interacciones proteína-proteína, lo que dificulta aún más la solubilización. La temperatura hace que aumente la actividad de los enzimas proteolíticos, produciéndose un aumento marcado de nitrógeno no proteico durante la maduración (Martín et al., 1998). En las primeras etapas aparece una mayor cantidad de nitrógeno peptídico, la cual aumenta su concentración hasta la fase de secadero. A medida que avanza el proceso y aumenta la temperatura y la desecación, los enzimas continúan su función y son las peptidasas y aminopeptidasas las que degradan los di y tripéptidos a aminoácidos libres (AAL) (Figura I.22). Se ha descrito también una fracción de nitrógeno básico volátil que daría como resultado la formación de compuestos tipo aminas y amoníaco, pero su concentración no es relevante en el jamón ibérico curado (Cordoba, Rojas, et al., 1994).

La población de microorganismos presentes en la superficie del jamón también va a influir en las reacciones de proteólisis. Las micrococáceas, las levaduras y los mohos tienen capacidad proteolítica, siendo más acusada en el caso de estos últimos.

La concentración final de AAL es un buen indicador del grado de proteólisis alcanzado durante la maduración de los productos cárnicos curados (Flores et al., 2009; Toldra et al., 2000), pues se van acumulando de forma gradual a lo largo del proceso. Resultado de esta acumulación de aminoácidos es la influencia que tienen en el sabor y el aroma del producto final, aportando sabor dulce (alanina, glicina y serina) o sabor umami (ácido aspártico y glutámico) (Mau & Tseng, 1998). (Virgili et al., 1998) describieron que una alta concentración de aminoácidos en el producto final está relacionada con una mejor valoración del sabor y flavor.

Otros aminoácidos producen otras modificaciones en el jamón curado, como es el caso especial de la tirosina. Este aminoácido es muy insoluble y puede precipitar formando cristales blancos a lo largo del proceso de curación, fruto de las reacciones de proteólisis acontecidas y de la síntesis aminoacídica microbiana (Arnaú et al., 1996).

I.11. PÉPTIDOS BIOACTIVOS PRESENTES EN EL JAMÓN CURADO.

En los últimos años, debido al aumento de la preocupación de la población por la salud y la nutrición, está habiendo una tendencia a investigar y demostrar el valor añadido y las propiedades nutricionales que tienen determinados alimentos. En la actualidad se tiende a desarrollar “Alimentos Funcionales”. Estos alimentos poseen moléculas activas que aportarían algún efecto beneficioso para la salud, además de sus características nutritivas, y podrían evitar la aparición o mejorar la sintomatología de determinadas enfermedades crónicas. Así pues, se han estudiado las propiedades de la uva (Martin et al., 2020), de la miel (Berenbaum & Calla, 2021) o el café (Gemechu, 2020). Debido a las declaraciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) el consumo de carnes rojas y productos cárnicos se ha relacionado con la aparición de cáncer, entre ellos el cáncer colorrectal (IARC, 2018). Pero los productos cárnicos también han sido catalogados como alimentos que pueden ser fuente de péptidos bioactivos con capacidad

antioxidante, con actividad inhibitora de la enzima convertidora de la angiotensina I (IECA), entre otras (Escudero et al., 2014; Li, Wu, Wan, et al., 2022; Montoro-García et al., 2017). A lo largo de los años se han reformulado las recetas de numerosos productos para reducir, o incluso eliminar, determinados componentes como la sal, la grasa u otros aditivos, buscando mejorar el perfil nutricional del alimento en cuestión. El desarrollo de alimentos funcionales se ha convertido en uno de los retos más importantes de la industria alimentaria en la actualidad, siempre conservando unas características organolépticas que satisfagan las exigencias del consumidor, siendo muy importante el sabor y la textura.

Los péptidos son moléculas procedentes de proteínas precursoras que se encuentran de forma inactiva en la carne y pasan a tener actividad tras el procesado o la digestión. El procesado será el que determine si estos péptidos se desarrollan, pues en productos con el jamón cocido no aparecen péptidos con bioactividad debido a que, al no haber proteólisis, no se desarrollan (Martínez-Sánchez et al., 2017; Montoro-García et al., 2022). Durante el proceso de curación del jamón, la acción de las endopeptidasas (catepsinas y calpaínas) y las exoproteasas permite la formación de péptidos. Las catepsinas y las calpaínas comienzan a ejercer su acción durante la fase fría del secadero (etapa de postsalado) pero, el aumento de la concentración de sal, junto con la desecación, hace que su actividad vaya disminuyendo. Estas endopeptidasas son las responsables de la formación de fragmentos proteicos más grandes y polipéptidos. Por otro lado, la actividad de las exoproteasas se ve muy favorecida con el aumento de temperatura en el secadero por encima de los 25°C (actividad temperatura-dependiente) y la mantienen hasta las fases más avanzadas del proceso. Las exoproteasas contribuyen a la formación de los péptidos (Toldra et al., 2020a). Se desencadenan así reacciones intensas de proteólisis que darán lugar a la hidrólisis de las proteínas y liberación de compuestos nitrogenados no proteicos (NNP). Como resultado de esta desnaturalización, se produce la acumulación de aminoácidos libres y pequeños péptidos. Estos estarían compuestos por 2-20 AA y con una masa molecular menor a 6000Da (Martínez-Sánchez et al., 2017). Los péptidos modifican la textura de la carne curada e influyen en el aroma final del proceso.

Cuando se reduce la cantidad de sal utilizada para la curación del jamón, aumenta el índice de proteólisis y con ella la producción de NNP, pues la

degradación de las proteínas es inversamente proporcional a la concentración de sal (Martín et al., 1998). Probablemente, se produzca una mayor acumulación de péptidos con bioactividad. Además, se liberaran más péptidos y aminoácidos dando lugar a un impacto interesante en el sabor (Rabe et al., 2003).

En la actualidad, numerosos estudios han descrito las propiedades beneficiosas que estos péptidos pueden tener para la salud, propiedades que todavía en 2009 eran sólo una suposición. Se ha estudiado su presencia en el jamón curado y se ha evaluado la influencia que pueden tener en determinadas enfermedades de evolución crónica ejerciendo una actividad antioxidante (Bueno-Gavila et al., 2019), antihipertensiva (Mora, Escudero, Arihara et al., 2015), inmunomoduladora (Harnedy & FitzGerald, 2012), reguladora del apetito (Kaneko, 2021), hipocolesterolemica (Heres, Mora, et al., 2021) o hipoglucémica (Mora et al., 2020; Xing et al., 2019), interviniendo en las rutas glucolíticas. De todas ellas, la que mejores resultados y evidencias ha tenido es la capacidad de inhibir la enzima convertidora de la angiotensina-I (ECA-I) (Bueno-Gavila et al., 2019; Montoro-Garcia et al., 2017; Mora, Escudero, Arihara et al., 2015; Mora et al., 2018) ayudando así a paliar los efectos negativos que puede ocasionar la sal a nivel cardiovascular en los pacientes con hipertensión moderada. Algunos de estos estudios realizados in vivo aseguran, además, que un consumo regular de jamón curado disminuiría los niveles de colesterol en sangre, así como los de LDL y la glucosa basal (Montoro-Garcia et al., 2017).

Se ha observado que las secuencias peptídicas o dipéptidos que mayor bioactividad presentarían serían aquellas que tuvieran una mayor cantidad de aminoácidos hidrófobos en su cadena, con un tamaño menor a 1kDa y compuestas por 10 aminoácidos en su cadena (Heres et al., 2022; Huang et al., 2017); (Wattanasiritham et al., 2016).

Se ha demostrado que el jamón serrano es una buena fuente de péptidos bioactivos con actividad IECA, antioxidante (Elizabeth Escudero et al., 2013; Escudero et al., 2014). Los IECAs son, generalmente, fármacos que actúan inhibiendo la ECA-I. Esta enzima convierte la angiotensina-I en angiotensina-II. Se trata de un potente vasoconstrictor que, además, inhibe la acción vasodilatadora de la bradiquinina. De aquí el interés de los péptidos con actividad IECA y su papel en personas que padecen enfermedades cardiovasculares e hipertensión (Mora et

al., 2016). Por otro lado, el interés por los péptidos con actividad antioxidante ha aumentado en los últimos años debido las especies reactivas de oxígeno (ROS) podrían producir un daño oxidativo en la secuencia de ADN, en las proteínas e incluso, en otras moléculas como los lípidos. Esto hace que los ROS estén relacionados con la aparición de algunas enfermedades como el cáncer, la enfermedad cardiovascular o la diabetes, siendo muy interesante la acción de estos péptidos en las estrategias de prevención (Elizabeth Escudero et al., 2013). La hipercolesterolemia también está asociada a la aparición de enfermedades cardiovasculares. En el jamón curado se han identificado diferentes secuencias de péptidos que podrían mejorar el estatus sanitario de los pacientes con colesterol alto; diferentes dipéptidos han sido identificados con actividad moduladora de la enzima 3-hidroxi-metil-glutaril-coenzima A reductasa, que inhibirían la síntesis de colesterol en el hígado (Heres, Mora, et al., 2021); además, estudios realizados in vivo muestran que el consumo regular de jamón produce un descenso de los niveles de LDL, así como de la glucemia en sangre (Montoro-Garcia et al., 2017). Otras secuencias identificadas en el jamón serrano, y relacionadas con el estudio anterior, presentan actividad inhibidora de la dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV). La DPP-IV degrada las hormonas incretinas responsables de liberar la insulina, suprimir la secreción de glucagón y mejorar la concentración de glucosa en el plasma sanguíneo (Gallego et al., 2014). Una de las bioactividades menos estudiada es la antimicrobiana. Se han identificado un total de 10 péptidos con potencial de inhibición del crecimiento de *Listeria Monocytogenes* en jamón serrano (Castellano et al., 2016). Por último, se ha llegado a estudiar la biodisponibilidad de algunos de estos péptidos bioactivos tras la cocción y digestión de los huesos de jamón curado. Los resultados muestran que los péptidos liberados de forma natural tras cocinar los subproductos del jamón podrían tener un efecto beneficioso en la salud cardiovascular (Gallego et al., 2019).

En jamones de otras regiones estudios identifican la presencia de péptidos bioactivos, observándose que la raza y el tipo y tiempo de procesado influyen en los péptidos generados (Mora, Escudero, Arihara et al., 2015; Mora et al., 2016; Wang et al., 2021). Se han identificado péptidos en jamones italianos o belgas con actividad IECA y antioxidante (Mora et al., 2016). En jamones de Jinhua, Xuanwei o mutton también han sido identificados péptidos con actividad antioxidante. A

pesar de que los jamones de estas tres regiones habían sido curado durante el mismo periodo de tiempo, los jamones mutton presentaron mayor capacidad de quelación del Fe^{+2} y el jamón de Jinhua mayor actividad de barrido de radicales ABTS y DPPH (Wang et al., 2021).

El jamón ibérico también es un producto reconocido por ser fuente de péptidos bioactivos debido a la intensa proteólisis que se produce durante el proceso de curación. La actividad antihipertensiva estudiada en este tipo de jamón es elevada, incluso mayor que en el jamón serrano y en el jamón curado DOP Teruel de 14 meses de curación. Esta diferencia probablemente sea debido al mayor tiempo de curación del jamón ibérico (en el caso de este estudio fue de 24 meses) (Mora, Escudero, Arihara et al., 2015). En 2020 se identificaron por primera vez péptidos inhibidores de la alfa-glucosidasa en jamones procedentes de cerdo ibérico. Esta enzima que suele ser objetivo diana para el tratamiento de la Diabetes mellitus tipo 2 debido a su relación con el metabolismo de los carbohidratos (Mora et al., 2020).

En jamones curados reducidos en sal sólo se ha realizado, muy recientemente, un estudio en el que se han identificado algunos dipéptidos y se han estudiado diferentes bioactividades. Los resultados mostraron que las secuencias identificadas podrían ser multifuncionales y tendrían un efecto cardioprotector y antiinflamatorio (Heres et al., 2022). Sin embargo, no existen estudios en el jamón ibérico que evidencien como afecta la reducción de sal a la producción de péptidos bioactivos y tampoco que lo relacionen con un cambio en el procesado como es el deshuesado en fresco.

En la Tabla I.2 se muestran algunos de las secuencias de péptidos con bioactividad identificados en el jamón curado.

Se piensa que se podría prescribir de forma directa o indirecta estos péptidos, los cuales proceden de forma natural de los alimentos, para el tratamiento de determinadas enfermedades y esquivar así la aparición de efectos adversos secundarios a la utilización de fármacos artificiales. (Pogorzelska-Nowicka et al., 2018) describieron las estrategias para aumentar el consumo de péptidos funcionales con la dieta. Entre las diferentes estrategias estaría introducir el consumo de productos cárnicos en una de las comidas, añadir a determinadas

comidas proteínas precursoras de estos péptidos funcionales o añadir directamente los péptidos habiéndose estudiado la encapsulación de los mismos.

Tabla I.2. Secuencias de péptidos con bioactividad identificados en jamón curado.

SECUENCIA	ACTIVIDAD	PRODUCTO	REFERENCIA
AAAAG, ALGCA LVSGM	Actividad inhibidora (ritmo inferior)	Jamón curado	(Montoro-García et al., 2017)
AAATP, KA	Inhibidor de la DPP-IV	Jamón curado	(Montoro-García et al., 2017)
AAPLAP VPPAK PAAPPK KAAAAP KPGRP KPVAAP	Inhibidora de la ECA	Jamón curado	(Montoro-García et al., 2017)
DLEE, GKFNV LPGGGHGDL	Actividad antioxidante	Jamón de Xuanwei y Jinhua	(Mora et al., 2016)
GLAGA	Reductora	Jamón Serrano	(Elizabeth Escudero et al., 2013)
GVVPL IQLVEEELDRA LKGADPEDVITGA RVPE DIDDLELT DIDSPITAR	Inhibidora de la ECA	Jamón de Parma	(Dellaflora et al., 2015)
SAGNPN	Reducción de radicales libres	Jamón Serrano	(Elizabeth Escudero et al., 2013)
ECADVITGA ASGPINFT PAPPK AMNPP IKLPP AAPLAP PSNPP KVLPG TGLKP KAAAATP	Inhibidora de la ECA	Jamón Serrano	(Escudero et al., 2014)
DA, DD, EE, ES, LL	Hipocolesterolemica	Jamón curado	(Heres, Mora, et al., 2021)
DA, EE, ES, GA	Antiinflamatoria	Jamón curado reducido en sal	(Heres et al., 2022)
EA, PP, VE, PE, AD	Inhibidora de la ECA, DPP-IV y/o DPP-III	Jamón ibérico	(Mora et al., 2020)
RHGYM	Antilisteria	Jamón Serrano	(Castellano et al., 2016)

I.12. CALIDAD SENSORIAL DEL JAMÓN CURADO

El jamón ibérico y el serrano son productos de una muy alta calidad sensorial resultado de los procesos degenerativos, tanto de las proteínas como de los lípidos, junto con el diseño del proceso de elaboración y la materia prima escogida. La calidad del jamón ibérico vendrá influida principalmente por el porcentaje de raza y el tipo de alimentación. Siendo atributos que influyen en la aceptación y elección del producto por parte del consumidor (García-Torres et al., 2020).

El color del magro ibérico suele ser de un color rojo más intenso y brillante (Figura I.23). Es un atributo ligado a la genética del cerdo. La propia proteína de la carne, la mioglobina, se concentra a medida que avanza el proceso de curación y confiere este color tan atractivo a la vista. Además, estas proteínas con el aumento de la temperatura llegan a dividirse en aminoácidos que aportan un sabor característico al jamón. El aminoácido más abundante es el ácido glutámico que, al interaccionar con el sodio, formaría glutamato monosódico, principal responsable del sabor umami (García-Esteban et al., 2005). La grasa infiltrada en forma de vetas le da un aspecto marmóreo y suele ser más abundante en el jamón ibérico. En éste último es de color blanquecino, blanda y fluida al corte, consecuencia de un alto contenido en ácido oleico y en antioxidantes. Confiere a la loncha jugosidad y una mejor masticabilidad, además de mantener los sabores mayor tiempo en boca (Ventanas, 2009).

El jamón ibérico es característico por su aroma intenso y persistente y por la intensidad de su olor con notas a frutos secos. Los compuestos volátiles con bajo umbral de olfacción (aldehídos) y la elevada cantidad de compuestos no volátiles influyen en el sabor de este producto tradicional (García et al., 1996). Todas estas moléculas, proceden de los numerosos cambios químicos y bioquímicos que se dan a lo largo del proceso de maduración y que se han descrito en los puntos anteriores.

Durante la masticación, la percepción de sabor y el aroma del jamón ibérico o serrano, comienza con la captación de la salinidad, que da paso a la detección de la jugosidad seguida del aroma y finalmente se aprecia el flavor.

Hoy día la salinidad es el atributo que, de forma preferente, hace que el consumidor rechace el jamón en el caso de que sea elevada. La percepción del sabor salado se hace a través de las papilas gustativas, concretamente en aquellas zonas

donde existen papilas fungiformes. Como se ha indicado anteriormente, las actuales recomendaciones de la OMS de disminuir el consumo diario de sodio, ha hecho que las industrias produzcan alimentos con menos sal. Al disminuir, de forma general, la concentración de sodio en saliva ha disminuido el umbral de detección de este importante atributo y la percepción del sabor salado ha aumentado. Provocando, a su vez, que cada vez los consumidores demanden alimentos con menos sal.



Figura I.23. Aspecto de la loncha de jamón ibérico.

La textura suele ser jugosa en ambos productos. Aunque está influida por el contenido de grasa intramuscular e incluso, por la grasa superficial (Ruiz et al., 2002). Su presencia ayuda a contrarrestar la sensación de sequedad y fibrosidad que puede aparecer al tratarse de un alimento con baja humedad debido al proceso de secado. La presencia de grasa también ayuda a mejorar la calidad visual del producto y la sensación olfato-gustativa. Esto hace que los consumidores prefieran el jamón ibérico a otros como el jamón serrano (González Viñas et al., 2003).

I.13. DECLARACIONES NUTRICIONALES Y DE PROPIEDADES SALUDABLES EN EL JAMÓN CURADO

Una declaración nutricional es aquella representación, ya sea mediante imagen, esquema o símbolo, que afirme, sugiera o dé a entender que un alimento tiene propiedades nutricionales especiales que podrían ser beneficiosas con motivo

de que contenga o no o que tenga aumentada o reducida alguna sustancia. Las declaraciones de propiedades saludables serían aquellas que relacionan estos efectos beneficiosos con la salud (AESAN, 2021) y se clasifican en:

- Relativas al crecimiento y salud de los niños
- Relativas a la reducción del riesgo de enfermedad
- Distintas de las de reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y salud de los niños
- Basadas en pruebas científicas recientemente obtenidas y/o con protección de los datos

Las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables se pueden incorporar al etiquetado con carácter voluntario y sólo están permitidas aquellas que están autorizadas según el Reglamento (CE) nº 1924/2006, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos (BOE, 2006).

Los valores máximos y mínimos para determinar las declaraciones nutricionales que pueden ser asignadas a una sustancia se muestran en la Tabla I.3:

Tabla I.3. Valores mínimos para determinar las declaraciones nutricionales para los diferentes minerales (BOE, 2006).

	Valor mínimo para "Fuente de"	Valor mínimo para "Alto contenido en"
Proteína (g)*	12%	20%
Fe (mg)	2,1	4,1
K (mg)	300	600
Na (mg)	120**	40***
P (mg)	105	210
Se (µg)	8,25	16,50
Zn (mg)	1,5	3,0

porcentaje de la energía que proviene de la proteína; **valor máximo para bajo valor en Na; *valor máximo para muy bajo contenido en Na*

En la Tabla I.4 se indican aquellas declaraciones saludables que se pueden atribuir a las declaraciones nutricionales de minerales:

El hierro es un micronutriente esencial en la dieta, pues su déficit produce anemia, una de las principales preocupaciones en salud pública. Gran parte del hierro presente en el jamón curado pertenece al grupo hemo (Lucarini et al., 2013). Esto hace que su biodisponibilidad sea alta y se absorba mejor que el hierro no-hemo presente en otros alimentos como las legumbres. El jamón ibérico podría aportar entre 1,8 y 3,3 mg/100g de hierro a la dieta (Jimenez-Colmenero et al., 2010) por lo que el jamón ibérico podría ir acompañado por la declaración nutricional “Fuente de hierro”. Este micronutriente se encuentra en valores más bajos en diferentes tipos de jamón procedente de Italia (Lucarini et al., 2013).

El potasio es el catión más abundante en el organismo. Desempeña un papel fundamental en la comunicación neuromuscular y en la función celular. Las alteraciones en su regulación podrían desencadenar la aparición de problemas neuromusculares, gastrointestinales y cardíacos (Ferreira et al., 2020). El jamón curado aportaría una cantidad de K de 153-160 mg/100g (Jimenez-Colmenero et al., 2010) por lo que este micronutriente no podría ser asociado a ninguna de las declaraciones nutricionales de la Tabla I.4.

El fósforo está presente en diferentes alimentos como son el queso, la carne, el pescado o los cereales y vegetales. El fósforo presente en los alimentos de origen animal tiene una mayor digestibilidad que el fósforo de origen vegetal. Según los datos encontrados en la bibliografía (Jimenez-Colmenero et al., 2010), el jamón curado podría ir acompañado de la declaración nutricional “Fuente de Fósforo” al contener 157-180 mg/100g de fósforo.

El selenio es un micronutriente relacionado con la salud cardiovascular y algunas otras enfermedades crónicas como el cáncer. Puede ejercer una acción antioxidante en el organismo teniendo una biodisponibilidad aceptable si proviene de alimentos de origen animal (Calvo et al., 2017; Higgs, 2000). Según el estudio realizado por (Jimenez-Colmenero et al., 2010) los jamones ibéricos podrían contener 29 µg/100g de selenio, frente a los 10-14 µg/100g de selenio que aportaría la carne de cerdo. Según las declaraciones nutricionales indicadas anteriormente, el jamón ibérico podría ir acompañado de la declaración “Alto contenido en Selenio”.

Tabla I.4. Declaraciones saludables atribuidas a las declaraciones nutricionales de minerales (BOE, 2006).

	Declaración Nutricional	Declaración Saludable
Fe	FUENTE DE HIERRO	El hierro contribuye: al funcionamiento normal de la función cognitiva, metabolismo energético, formación de glóbulos rojos, funcionamiento del sistema inmune, disminuir el cansancio y ayuda al proceso de división celular.
K	FUENTE DE / ALTO CONTENIDO EN POTASIO	El potasio contribuye al funcionamiento normal del sistema nervioso, funcionamiento muscular y mantenimiento de tensión arterial.
P	FUENTE DE/ ALTO CONTENIDO EN FÓSFORO	El fósforo contribuye al metabolismo energético, funcionamiento de membranas celulares y mantenimiento de huesos y dientes.
Se	FUENTE DE/ ALTO CONTENIDO EN SELENIO	El selenio contribuye al funcionamiento normal del sistema inmune, función tiroidea normal, protege del estrés oxidativo y ayuda al mantenimiento del cabello y uñas en condiciones normales.
Zn	FUENTE DE/ ALTO CONTENIDO EN ZINC	El Zinc contribuye al metabolismo normal de hidratos de carbono, síntesis de ADN, función cognitiva, metabolismo de ácidos grasos, fertilidad normal, metabolismo normal de vitamina A, mantenimiento de piel, cabello, uñas y huesos y funcionamiento del sistema inmune, visión normal y previene el estrés oxidativo.

Por último, el jamón curado podría asociarse a las declaraciones nutricionales “Fuente de zinc” o “Alto contenido en zinc” por poder aportar 2.2 mg/100g y hasta 3.0 mg/100g, respectivamente (Jimenez-Colmenero et al., 2010), teniendo una media de 2.4 mg/100g (Lucarini et al., 2013). El zinc juega un papel importante en la formación del compuesto zn-protoporfirina durante el proceso de curación del jamón, responsable del pigmento rojo que dará color al magro. Se producirá la sustitución del hierro hemo central en el anillo de porfirina por una molécula de zinc (Adamsen et al., 2006).

El sodio forma parte del líquido extracelular siendo el principal catión que se intercambia con el compartimento intracelular. Regula la presión osmótica y mantiene el potencial de membrana, participa en las transmisiones nerviosas y en las contracciones musculares y juega un papel fundamental en la absorción de AAL, glucosa y agua en el intestino (Petit et al., 2019). A pesar de formar parte de estas funciones tan importantes para la salud del consumidor, como se ha apuntado en apartados anteriores, la elevada ingesta de sodio está asociada a la hipertensión y a la aparición de enfermedades cardiovasculares (Strazzullo et al., 2009; Wang et al., 2020). Además, el exceso de consumo de sal también está relacionado con la mayor incidencia de cáncer colorrectal, cáncer de estómago y la osteoporosis (Barat & Toldra, 2011).

Sólo podrá etiquetarse como producto “Reducido en sal” aquel que tenga el valor equivalente para la sal con una diferencia del 25 % respecto a los productos de su misma categoría (BOE, 2006). Junto con la declaración nutricional, se podría acompañar de forma voluntaria con la declaración de propiedades saludables “Un menor consumo de sodio contribuye a mantener la tensión arterial normal” (BOE, 2012). Siempre que se utilice esta declaración de propiedades saludables se tendrán que incluir en el etiquetado otras frases que indiquen la importancia de la dieta como “Es muy importante mantener una dieta variada y equilibrada, así como un estilo de vida saludable”; otra dirigida a las personas que deberían restringir su consumo como “se recomienda un consumo moderado y ocasional para las personas con hipertensión arterial”; y otra advirtiendo del exceso de consumo como podría ser “La OMS recomienda un consumo máximo diario de 5g de sal al día”.

Por último, en el caso del jamón curado, hasta la fecha, no se podría etiquetar ninguno de ellos como “Bajo contenido de sodio/sal” debido a que sólo podrá declararse, así como alegar otra declaración que tuviera el mismo significado para el consumidor, si el producto no contiene más de 0,12 g de sodio (0,3 g sal/100g) (BOE, 2006). En la bibliografía no existen jamones que se puedan curar con una cantidad de sal tan baja.

CAPITULO II. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

II. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

En la actualidad hay una preocupación generalizada por disminuir la cantidad de sodio que se consume con los alimentos. Su alta ingesta se ha relacionado con el aumento de la presión arterial y la aparición de enfermedades cardiovasculares (Strazzullo et al., 2009). Es por ello que, la OMS recomendó la disminución de su consumo a un máximo 5g/día.

Debido a que el 72% del sodio que se consume proviene de los alimentos preparados (Zurera Cosano et al., 2010), se ha propuesto reformular estos alimentos para que contengan una menor cantidad. Aquí juegan un papel importante los productos cárnicos y entre ellos, el jamón curado. Por este motivo, la empresa AROMAIS para mejorar su competitividad en el mercado, comenzó a reducir la sal de los jamones que elaboraba. Y se decidió comenzar un proyecto de investigación más amplio en el que se enmarca este Doctorado Industrial, y mejorar así tanto el perfil nutricional como la calidad de los jamones.

El jamón serrano y el ibérico son productos tradicionales que forman parte de la cultura española y se consumen de forma habitual en los hogares. Más del 50% de los catadores consume jamón curado, al menos, una vez a la semana. El deshuesado del jamón podría mejorar la difusión de la sal, lo que permitiría reducir el tiempo de salazón y con ello, la cantidad de sodio en el producto final, además de facilitar su posterior loncheado (Kemp et al., 1980; Kemp & Fox, 1977). En la bibliografía no existen estudios que elaboren un jamón ibérico deshuesado curado y reducido en sal. Por otro lado, la reducción de sal podría incrementar la proteólisis y, con ello, la concentración de péptidos bioactivos (Martín et al., 1998). Tanto en el jamón blanco como en el jamón ibérico se ha demostrado que los péptidos bioactivos tienen un efecto beneficioso para la salud de los consumidores. Se ha llegado a concluir que el consumo habitual de jamón curado no afecta negativamente a la presión arterial y podría evitar la aparición de otras enfermedades crónicas (Montoro-García et al., 2017). Así que, con la disminución de los niveles de sodio en el jamón ibérico curado, se contribuirá a mejorar el nivel de ingesta de sal entre los consumidores y los péptidos bioactivos contribuirían a evitar la aparición de algunas enfermedades. Para ello se plantea como **objetivo general** del proyecto:

Desarrollar jamones curados deshuesados procedentes de pernils de cerdo ibérico (y de razas comerciales) en un nuevo formato, con una reducción de sodio del 25% y evaluar la bioactividad de sus péptidos.

Para llevar a cabo el objetivo general, se plantean los siguientes **objetivos específicos** del proyecto:

1. Estudiar el efecto de la raza sobre la etapa de salado de jamones ibéricos y blancos deshuesados.
2. Caracterizar fisicoquímica y composicionalmente el jamón ibérico deshuesado durante el postsalado.
3. Evaluar la influencia del proceso de salado y el efecto de la raza sobre la composición y las características fisicoquímicas, bioquímicas, microbiológicas y sensoriales en jamones deshuesados y reducidos en sal.
4. Desarrollar y adaptar las condiciones de procesado para la obtención de un jamón ibérico y blanco deshuesado reducido en sal, determinando el momento óptimo de curación en función de la merma.
5. Evaluar la actividad antihipertensiva y antioxidante de los diferentes tipos de jamón.
6. Evaluar la influencia del procesado (descenso de sal y deshuesado) sobre la generación de péptidos bioactivos, analizando su bioactividad en BIOPEP e identificando las secuencias de péptidos con bioactividad.

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. SELECCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Se seleccionaron un total de 54 jamones. Treinta y seis jamones de cerdo ibérico de cebo intensivo (con un porcentaje racial 50% ibérico y 50% duroc,) y 18 jamones de cruce de cerdo blanco Landrace x Large White o Hampshire, cuya alimentación también se desarrolló en cebo intensivo.

Los jamones ibéricos se distribuyeron en 6 lotes de 6 jamones. La mitad se procesaron con hueso de manera tradicional (IBT), siendo estos los lotes control. La otra mitad de los jamones ibéricos y, los tres lotes de jamones blancos se deshuesaron en fresco y fueron sometidos al nuevo proceso desarrollado para conseguir la reducción de sal (IBR y BLR, respectivamente). Con el objetivo de evaluar el efecto del procesado (deshuesado y reducción de sal), se compararán los jamones IBT e IBR. Para estudiar el efecto de la raza se compararán los jamones IBR y BLR. En la Figura III.1 se esquematiza el diseño experimental de esta tesis.

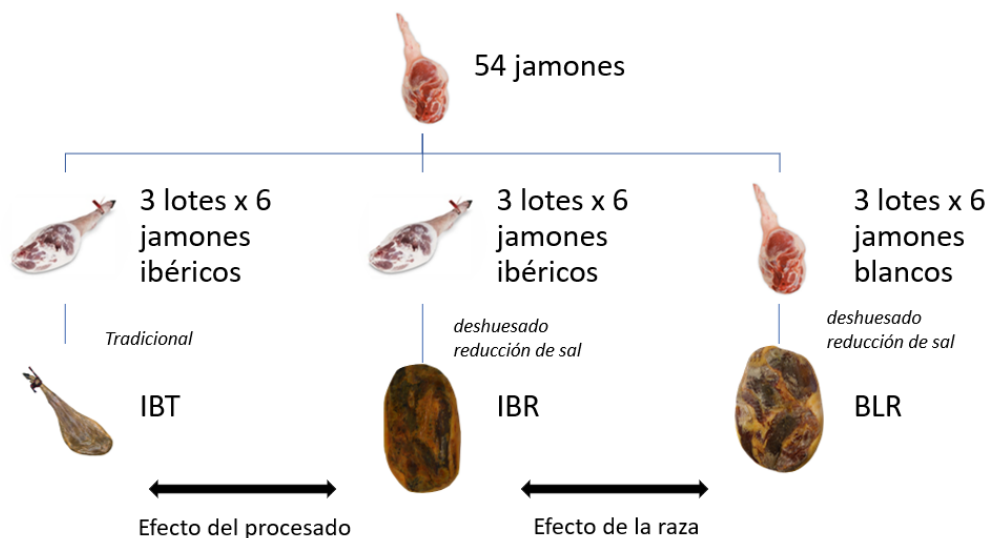


Figura III.1. Esquema general del diseño experimental.

III.2. PROCESO DE ELABORACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS

Para la realización de los procesos destinados a reducir la sal (IBR y BLR), los jamones se deshuesaron (Figura III.2) y pelaron (retirando la piel). El proceso de curación se llevó a cabo por completo en las instalaciones de AROMAIBÉRICA SERRANA, S.L. (AROMAIS) en Balsapintada (Murcia). Se salaron aplicando sobre la superficie sales nitrificantes y, posteriormente, enterrándolos en sal marina en una cámara a 3 °C y 90% Hr a razón de 0,8 días/kg. Después del salado los jamones se lavaron con agua a presión y se llevó a cabo un proceso tradicional de curación. Se comenzó la fase de reposo o postsalado a 3 °C y 60% Hr y se fue incrementando la temperatura de forma paulatina hasta los 6 °C; se dio por finalizada esta fase cuando los jamones alcanzaron un 18% de pérdida de peso. Esta fase se alargó un mínimo de 120 días, prolongando así la fase de postsalado para disminuir al máximo la a_w e intentar contrarrestar la falta de sal (Barat et al., 2013). Seguidamente, comenzó la fase de secado aumentando lentamente la temperatura hasta alcanzar los 28 °C y 55% Hr. Hacia la mitad de esta fase se realiza el enmantecado que le dará protección a la pieza para evitar el encostramiento o el sobrecrecimiento de mohos y/o parásitos no deseados. El proceso se dio por concluido cuando los jamones alcanzaron una pérdida del 38% de su peso. Finalmente, los jamones se trasladaron a la bodega donde la temperatura se mantiene a 15 °C para realizar la fase de afinamiento o bodega.



Figura III.2. Deshuesado del jamón en fresco (Fte. Elaboración propia).

Las muestras fueron tomadas en las siguientes Fases: I. Materia Prima Fresca; II. Inicio de Postsalado; III. Final de Postsalado; IV. Secado (33% de merma) y V. Final del proceso (38% de merma). Para poder comparar jamones de distintas razas se tomó como referencia el porcentaje de merma. En AROMAIS se considera el momento óptimo de curación, o producto final, cuando el jamón ha alcanzado una merma del 38%. No obstante, según la ETG del Jamón Serrano, el jamón está listo para su venta con un 33% de merma (MAPA, 2008). De esta manera se compararon los jamones con una merma del 33% y 38%. Obviamente, el tiempo transcurrido fue menor en jamones de cerdo blanco que en los ibéricos, que tardaron de media 12 meses más en curarse que los jamones de cerdo blanco.

La merma de los jamones se controló tomando como referencia el peso en fresco y se volvieron a pesar por triplicado los jamones en cada etapa. El porcentaje de la diferencia de peso se considera la merma, calculándolo como se indica en la Figura III.3:

$$X = 100 - \frac{p \text{ etapa} * 100}{p \text{ fresco}}$$

Figura III.3 Ecuación para el cálculo de merma

donde X corresponde a la merma de la etapa que será calculada multiplicando el peso de los jamones en la etapa en estudio multiplicados por 100 y dividido por el peso de los jamones en fresco, todo ello, restándolo a 100. Los resultados se expresan en porcentaje de pérdida de peso.

Para conseguir mantener la integridad de los jamones en las Fases I-IV del proceso, se tomaron 3 muestras con la ayuda de un cilindro de acero inoxidable o "sacabocados" de 2 cm de diámetro (Figura III.4), en la zona correspondiente al músculo *Biceps femoris*. La zona se protegió con manteca para que se pudiera continuar con el proceso normal de curación. Una vez finalizado el proceso de curación, las piezas completas se trasladaron al laboratorio y se tomaron muestras para evaluación sensorial y análisis fisicoquímico inmediato. Una cantidad de 0.5 kg se conservó envasada al vacío a -80 °C para la realización de análisis posteriores. Todas las determinaciones analíticas se realizaron por triplicado.



Figura III.4. Toma de muestras con cilindro de acero o “sacabocados” (Fte. Elaboración propia).

Como producto control se curaron 3 lotes de 6 jamones de cebo ibéricos de los mismos lotes que los jamones ibéricos para el estudio de reducción de sal, y se llevó a cabo el proceso de curación tradicional seguido en la empresa. El tiempo de salado fue de 1 día/kg y se curaron con hueso hasta alcanzar el 38% de merma (alrededor de 24 meses de curación). De estos jamones sólo se tomaron muestras al final del proceso (Fase V) con el objetivo de comparar con el producto final de IBR. En la Figura III.5 se muestran los jamones ibéricos deshuesados en la cámara de maduración.



Figura III.5. Jamones ibéricos deshuesados en la cámara de maduración (Fte. Elaboración propia).

III.3. PROCEDIMIENTO GENERAL DE TRABAJO

La parte experimental se ha dividido en seis estudios que se detallan a continuación en la Tabla III.1:

Tabla III.1. Esquema de los estudios experimentales.

Estudio	Tipo de jamón	Toma de muestras	Análisis
ESTUDIO 1: Caracterización de la materia prima.	IBR BLR	Fase I	Peso, pH, espesor de grasa
ESTUDIO 2: Evaluación de la etapa de salado. Estudio del nivel de penetración de la sal y efecto de la raza.	IBR BLR	Fase II	Parámetros fisicoquímicos y bioquímicos (humedad, proteína, cenizas, NaCl) Minerales
ESTUDIO 3: Análisis de la difusión de sal en el jamón en la etapa de postsalado. Efecto del tiempo de procesado y la raza de cerdo.	IBR	Mitad de postsalado Fase III	Parámetros fisicoquímicos y bioquímicos (humedad, proteína, grasa, cenizas, NaCl, aw, NNP e índice de proteólisis.) Minerales
ESTUDIO 4: Evaluación del efecto del tipo de procesado y de la raza de cerdo sobre las características fisicoquímicas, bioquímicas, microbiológicas y sensoriales de los jamones.	IBR BLR IBT	Fase I Fase II Fase III Fase IV Fase V	Parámetros fisicoquímicos (humedad, grasa, proteína, N total, NNP, índice de proteólisis, NaCl, cenizas) Minerales; AAL; Análisis microbiológico Color y textura instrumental Panel de consumidores
ESTUDIO 5: Determinación del momento óptimo de curación.	IBR	Fase IV Fase V	Color y textura instrumental Panel de consumidores
ESTUDIO 6: Estudio de la bioactividad en jamones con diferente merma (33 y 38%). Efecto de la raza y el procesado.	IBR ₃₃ IBR BLR ₃₃ BLR IBT	Fase IV Fase V	DPPH y actividad antihipertensiva (IECA)
ESTUDIO 7: Secuenciación de péptidos bioactivos.	IBR ₃₃ IBR BLR ₃₃ BLR IBT	Fase IV Fase V	Secuenciación masiva de péptidos; similitud con la base de datos BIOPEP; Estudio de precursores peptídicos y bioactividades putativas.

A continuación, se detalla en qué consistieron los estudios llevados a cabo y la toma de muestras realizada en cada uno de ellos.

III.3.1. ESTUDIO 1: Caracterización de la materia prima.

En el estudio 1 se caracterizó la materia prima de los jamones ibéricos y blancos con el objetivo de utilizar una muestra lo más homogénea posible.

Se seleccionaron los jamones frescos de cerdos blancos e ibéricos con peso, espesor de grasa y pH similares. La empresa colaboradora, AROMAIS, ya había desarrollado un jamón blanco deshuesado reducido en sal (BLR), sin embargo, no había sido estudiado en profundidad. El objetivo fue determinar cómo influía la raza en este tipo especial de procesado. El jamón ibérico curado de forma tradicional (IBT) se utilizó para determinar si el deshuesado y la reducción de sal influían en el producto final.

Al ser un estudio no destructivo no conllevó ninguna actuación especial sobre los jamones muestreados. El peso se determinó con una báscula móvil correctamente calibrada de la marca Baxtran y modelo DSN30. Para el control del pH se utilizó un pH metro portátil de HACH modelo sensION™+ PH1 con sonda de la misma marca y modelo 50 53 T. Por último, el espesor de grasa fue determinado con un pie de rey. Ambos parámetros fueron determinados en el músculo Semitendinoso (ST) y en el músculo cuadrado (C) para tener una media representativa de todo el jamón.

III.3.2. ESTUDIO 2: Evaluación de la etapa de salado. Estudio del nivel de penetración de la sal y efecto de la raza.

Se estudió la penetración de la sal en 18 piezas en la fase de salado de IBR y BLR (3 lotes de 6 piezas para cada raza), analizando cómo influye la zona de la pieza y el efecto de la raza. Las analíticas se hicieron al terminar esta fase, es decir, en el inicio de postsalado (Fase II). Se tomaron muestras de la zona magra, central y en el tocino del jamón mediante un “sacabocados” (Figura III.6).

Las determinaciones analíticas realizadas fueron: humedad, proteína, cenizas, NaCl y minerales.



Figura III.6. Detalle del instrumento "sacabocados" (Fte. Elaboración propia).

III.3.3. ESTUDIO 3: Análisis de la difusión de sal en el jamón en la etapa de postsalado. Efecto del tiempo de procesado y la raza de cerdo.

Se evaluó el efecto de la reducción de sal y el deshuesado en los jamones ibéricos deshuesados (IBR). Se evaluaron características fisicoquímicas, bioquímicas y los minerales. Se tomaron muestras hacia la mitad del postsalado (60 días) y en la Fase III o final del postsalado (120 días). Tras el muestreo con "sacabocados" la zona se cubrió con manteca pura de cerdo para que las piezas pudieran continuar el proceso normal de curación.

Las muestras se tomaron de un total de 18 jamones IBR separados en 3 lotes de 6 piezas cada uno.

Con la ayuda de una picadora comercial se homogeneizaron las muestras para realizar por triplicado cada determinación analítica. Los parámetros de composición fisicoquímica y bioquímicos analizados fueron: humedad, proteína, grasa, cenizas, NaCl, aw, NNP e índice de proteólisis. Por otro lado, se determinó el contenido en minerales también en ambos momentos del proceso.

III.3.4. ESTUDIO 4: Evaluación del efecto del tipo de procesado y de la raza de cerdo sobre las características fisicoquímicas, bioquímicas, microbiológicas y sensoriales de los jamones.

El estudio 4 se desarrolló a lo largo de todas las fases del proceso de curación (Fase I a Fase V). En él se evaluó cómo afectó la raza y la fase del procesado a las

características fisicoquímicas, bioquímicas, microbiológicas y sensoriales de los jamones de cerdo ibérico y blanco.

Se tomaron 18 jamones ibéricos deshuesados (IBR) y 18 jamones blancos deshuesados (BLR) y se curaron separados en 3 lotes de 6 jamones cada uno y se estudiaron durante todo el procesado. Finalmente, los jamones IBR se compararon con los IBT al final del procesado, en el producto comercial.

Las muestras se tomaron por triplicado como se ha descrito anteriormente. Una vez alcanzada la última fase, la mitad de la pieza se destinó a las determinaciones analíticas y la otra mitad se envasó para realizar el análisis sensorial con consumidores. Las muestras para determinaciones analíticas fueron picadas con ayuda de una picadora comercial.

Los parámetros de composición fisicoquímica y bioquímica determinados fueron: humedad, grasa, proteína, nitrógeno total, NNP, índice de proteólisis, NaCl y cenizas en todas las fases para IBR y BLR. Estos mismos parámetros se determinaron para IBT en Fase V. La evolución del contenido en minerales fue determinada para IBR y BLR en todas las fases del proceso. El contenido de AAL fue determinado para los 3 tipos de jamones en la fase final del proceso (Fase V). Por otro lado, se comprobó la estabilidad microbiológica del jamón IBR para observar cómo había afectado la reducción de sal al producto final. Finalmente, se determinó el color y la textura instrumental para IBR, BLR e IBT en el producto final y se realizó un estudio sensorial de aceptación y preferencia con consumidores.

III.3.5. ESTUDIO 5: Determinación del momento óptimo de curación.

La empresa colaboradora, AROMAIS, ya tenía experiencia en jamones blancos deshuesados y reducidos en sal (BLR), pero no existen estudios previos en jamones ibéricos. Es por ello que el estudio 4 consistió en la determinación del momento óptimo de curación de los jamones ibéricos deshuesados y reducidos en sal (IBR).

Para llevarlo a cabo se compararon los resultados obtenidos en las determinaciones de color y textura instrumental en la Fase IV, en la que los jamones habían alcanzado un 33% de merma de curación, y la Fase V, fase final en la que

los jamones ya habían alcanzado un 38% de merma, teniendo en cuenta los resultados de las características fisicoquímicas en estas fases. Además, se realizó un estudio sensorial de consumidores comparando las muestras de la Fase IV y la Fase V.

III.3.6. ESTUDIO 6: Estudio de la bioactividad en jamones con diferente merma (33 y 38%). Efecto de la raza y el procesado.

Se evaluó la actividad antioxidante (DPPH) y la actividad antihipertensiva (IECA) en jamones IBR y BLR con una merma de curación del 33% y en jamones con merma de curación 38% (IBR, BLR e IBT).

Todos los análisis se realizaron por triplicado, a partir de las muestras de NPN de cada jamón.

Se estudió el efecto de la raza (IBR vs BLR) y el efecto del procesado (IBR vs IBT). Posteriormente, se compararon los jamones con merma 33% y los considerados como producto final (38%) con el objetivo de observar el efecto del tiempo de procesado.

III.3.7. ESTUDIO 7: Secuenciación de péptidos bioactivos.

Se llevó a cabo la secuenciación masiva de péptidos de los jamones con una merma del 33% IBR y BLR y en el producto final de IBR, BLR e IBT. Los resultados se compararon con los publicados en la base de datos BIOPEP con el objetivo de seleccionar secuencias que hubiesen sido identificadas como bioactivas. Se determinaron los diferentes grupos de bioactividades de estas mismas muestras, para comprobar la influencia del tiempo de procesado, las diferencias entre razas y el efecto del nuevo procesado.

Finalmente, se estudiaron en el producto final de IBR, BLR e IBT, aquellas secuencias que por sus características intrínsecas podrían tener bioactividad.

Para realizar este estudio todas las determinaciones se hicieron por triplicado del extracto de NPN.

III.4. ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN Y CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS

III.4.1. Humedad

El contenido de humedad fue determinado pesando 5 g de cada muestra con exactitud en balanza de precisión y en placas previamente taradas y desecadas. Se deseca la muestra a 105 °C durante 24 h siguiendo el procedimiento gravimétrico descrito por la norma ISO 1442 (ISO, 1997).

III.4.2. Cenizas

El contenido de cenizas en las muestras se analizó siguiendo el método oficial de la norma ISO 936 (ISO, 1998). En un horno MUFLA (Selecta, 2000 366) se introdujeron las muestras y se incineraron llevando la temperatura a 550 °C y manteniéndola hasta eliminar todos los restos de materia orgánica y obtener sólo cenizas.

III.4.3. Grasa

El contenido de grasa se determinó por el método (Folch et al., 1957). Se pesaron 2 g de la muestra deshidratada con una precisión del 1×10^{-4} g y se introdujo en el cartucho de extracción para llevarlo al extractor. Se añadieron 70 mL de éter dietílico en una taza de extracción previamente desecada 30 minutos a 103 °C en una estufa y tarada. Ésta se colocó sobre las placas calefactoras del extractor. Para llevar a cabo la destilación se utilizó un destilador Soxhlet automático marca Büchi. Una vez completado el programa de destilación, se secó la taza de extracción en una estufa a 103 °C durante 30 minutos. A continuación, se dejó enfriar en un desecador hasta alcanzar una temperatura ambiente. Por último, se pesó la taza con el extracto de grasa.

III.4.4. Minerales

Se analizaron mediante la técnica de espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado por inducción mediante un equipo ICP-AES Ultima 2, Horiba

Jobin Yvon (Milán, Italia). Para ello, se mineralizaron 0.5 g de jamón en un sistema microondas (Milestone 1200, FVK, Bergamo, Italia) para lo que se utilizaron 3 mL de ácido nítrico (Romil Ltd., Cambridge, Reino Unido) y 0.5 mL de peróxido de hidrógeno al 30% Suprapur (Merck, Alemania). Posteriormente, las muestras fueron diluidas con 50 mL de agua miliQ. Para calcular la concentración se tuvieron en cuenta las diferentes longitudes de onda: K (766.49 nm), Na (589.59 nm), Mn (540 nm), B (532 nm), Ca (393.36 nm), Cu (346 nm), Mg (279.55 nm), Fe (238.20 nm), Zn (213.85 nm) y P (213.61 nm) (Zanardi et al., 2010). Finalmente, el contenido de minerales se expresó en g/100 g de producto para los macrominerales (Na, K, Ca, Mg y P) y en mg/100g para los microminerales (Fe, Cu, Mn, Zn y B).

III.4.5. Determinación del contenido en sodio

La determinación del contenido en sodio se realizó determinando el NaCl por triplicado y de forma invasiva aplicando el método Volhard (ISO, 1996).

Se pesaron 2,5 g de la muestra triturada en un homogeneizador Ultra-turrax en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Se añadieron 25 mL de nitrato de plata (NO_3Ag), 10 mL de ácido nítrico (HNO_3) y 50mL de agua destilada para favorecer su disgregación y liberar las sales solubles contenidas en la muestra. Esta mezcla se llevó a ebullición y se le añadieron 15 mL de solución de permanganato potásico en alícuotas de 5 mL (se controlaron las que se añadieron a cada matraz).

Tras la mineralización con ácido nítrico y la oxidación simultánea con permanganato potásico se deja enfriar el matraz a temperatura ambiente; el método se modificó para añadir a la muestra 2 mL de nitrobencono y eliminar así las fases de decantación, además de 2 mL de indicador férrico. Finalmente, se tituló con tiocianato potásico utilizando el sulfato férrico amónico tetrahidrato en solución saturada, hasta que el medio virase a color rojo. El contenido total de cloruros se expresó en cloruro sódico utilizando la ecuación que se muestra en la Figura III.7:

$$\text{NaCl}(\%) = \frac{(2.51 - V \text{KSCN} * 0.1) * 58.46}{1000} * \frac{100}{m}$$

Figura III.7 Ecuación para la determinación de NaCl.

donde:

2.51 corresponden a los miliequivalentes totales de NO_3Ag ,

V KSCN es el volumen de tiocianato potásico utilizado en la valoración y 0.1 su normalidad; siendo el producto de ambos los miliequivalentes de nitrato de plata en exceso, que resultarán en los miliequivalentes de NaCl ,

58.46 es el peso molecular del NaCl ,

y m el peso de la muestra en gramos.

III.4.6. Proteína bruta y Nitrógeno Total

La determinación de la proteína bruta se realizó mediante el análisis del nitrógeno total (NT) se lleva a cabo mediante el método Kjeldahl (AOAC, 2000). Se realizó la digestión de $0,25$ g de muestra en el digestor Büchi con 10 mL de ácido sulfúrico en presencia de un catalizador, dando lugar a la transformación de los componentes nitrogenados en nitrógeno inorgánico en forma de ión amonio. Posteriormente, la muestra digerida se sometió a una destilación en medio fuertemente básico con hidróxido sódico al 40% , recogiendo el nitrógeno en forma de gas amonio en 25 mL de ácido bórico al 4% para proceder a su valoración con ácido clorhídrico 0.1 N. Finalmente se obtuvo el valor de proteína bruta multiplicando el valor de NT por 6.25 .

III.4.7. Actividad de agua (a_w)

La determinación de la actividad de agua se realizó mediante el equipo de FA-st lab de la marca GBX, basado en la determinación mediante el punto de rocío.

Previamente a la introducción de la muestra para esta determinación, se procedió a la calibración del aparato mediante sales de KCl , de alta actividad de agua, y trabajando en un intervalo de temperaturas entre 18 y 23 °C. Para la preparación de la muestra, se utilizaron unas pequeñas cápsulas diseñadas específicamente para este equipo, en las cuales se introdujo la muestra triturada extendiéndola por toda la base de la cápsula (aproximadamente 1 milímetro de espesor). Una vez hecho esto, se introdujo la cápsula en el equipo, obteniéndose el valor de a_w mediante lectura directa en la pantalla.

III.5. ESTUDIO DE LA PROTEÓLISIS DEL JAMÓN

Se determinaron los siguientes parámetros relacionados con la proteólisis: nitrógeno no proteico (NNP), índice de proteólisis (IP) y aminoácidos libres (AAL).

Para la determinación de NNP una desproteización con ácido tricloroacético. Se homogeneizaron 2 g de muestra en un vaso de precipitado de 100 mL con 50 mL de agua. Tras 15 minutos, se añaden 15 mL de solución de ácido tricloroacético al 20%. Tras 5 minutos, se filtra el contenido en un matraz Erlenmeyer de 100 mL. Se toman 15 mL del filtrado, realiza digestión, destilación y valoración siguiendo la metodología descrita por la AOAC (2012), aplicando el método Kjeldahl. El % de NNP de cada fracción se calcula con la expresión de la Figura III.8:

$$\% \text{ NNP} = ((V_{\text{HCl muestra}} - V_{\text{HCl blanco}}) \cdot M_{\text{N}} \cdot N_{\text{HCl}}) / (m_{\text{muestra}} \cdot 10)$$

Figura III.8 Ecuación para el cálculo de la fracción de NNP.

donde:

$V_{\text{HCl muestra}}$: volumen de HCl gastados en la valoración de la muestra (en mL).

$V_{\text{HCl blanco}}$: volumen de HCl gastados en la valoración del blanco (en mL).

M_{N} : masa molar del nitrógeno (14 g/mol).

N_{HCl} : concentración normal del HCl (0,1N).

m_{muestra} : peso de muestra (en gramos).

El IP se calcula de forma indirecta utilizando los valores de NNP y NT como se muestra en la Figura III.9:

$$IP = \frac{NPN}{NT} * 100$$

Figura III.9 Ecuación para el cálculo del índice de proteólisis (IP)

III.5.1. Determinación de aminoácidos libres (AAL)

El contenido de AAL se determinó siguiendo el método de Abellan et al., (2012), con algunas modificaciones.

La identificación y cuantificación de los aminoácidos libres se realizó mediante derivatización y separación por HPLC (Shimadzu LC-10AD) con detector de fluorescencia. Para la derivatización en precolumna se utilizó orto-ftaldehído (OPA) (Jones et al., 1981).

Para preparar la muestra a analizar, se precipitaron los péptidos del extracto correspondiente a la fracción nitrogenada libre de proteínas. A 10 mL de extracto de nitrógeno no protéico le fueron añadidos 10 mL de ácido sulfosalicílico (10%), manteniéndose en reposo entre 0 y 1 °C durante 17 h. Posteriormente, la mezcla fue ajustada a pH 6 con NaOH (4N). Tras filtrar el preparado, se añadió agua destilada hasta alcanzar los 50 mL de volumen y se dejó almacenada a -18 °C hasta que fue analizada. Antes de la inyección en el cromatógrafo, todas las muestras se pasaron por un filtro de 0,2 mm de poro para evitar impurezas.

Para obtener la solución de derivatización, se mezclaron 25 mg de OPA en 625 μ L de metanol absoluto, además de 25 μ L de 2-mercaptoetanol y 5,6 mL de borato sódico 0,4 M. Esta mezcla se mantuvo durante 24 h en un recipiente opaco anterior a su uso y, como propusieron Jones et al., 1981, se añadieron 5 μ L de 2-mercaptoetanol cada 2 días para mantener la fuerza del reactivo. De esta manera, la derivatización pudo realizarse mezclando 25 μ L de muestra y 25 μ L de solución de Sodio Dodecil Sulfato (2%) en Borato Sódico (0,4 M) a pH 9,5, además de 25 μ L de solución de OPA. Seleccionando un programa de pretratamiento de la muestra, cuando había pasado 1 minuto, se pausó la reacción y se añadieron 50 μ L de fosfato potásico 0,1 M a pH 4,6. Se inyectaron 20 μ L.

El gradiente de elución y los solventes utilizados para la separación del derivado OPA fueron descritos por (Salazar, 2013).

Una columna eclipse XDB-C18 (5 μ / 4,6 x 250 m/m) se acondicionó a 30 °C y se utilizó para realizar la separación cromatográfica. Se determinó mediante detector de fluorescencia (RF-10A XL) manteniendo una excitación (Ex) de 340 nm, una emisión (EM) de 450 nm, una respuesta de 0,5 s, una ganancia x1 y sensibilidad media.

Se incorporó norvalina como patrón cromatográfico, tanto en las soluciones patrón como en las muestras. Esto sirvió para comparar con los patrones estándar e identificar así los aminoácidos libres teniendo en cuenta sus tiempos de retención.

Los aminoácidos libres analizados fueron: ácido aspártico (Asp), ácido glutámico (Glu), serina (Ser), histidina (His), glicina (Gly), treonina (Thr), arginina (Arg), alanina (Ala), tirosina (Tyr), cisteína (Cys), valina (Val), metionina (Met), fenilalanina (Phe), isoleucina (Ile), leucina (Leu), lisina (Lys) y prolina (Pro). Se obtuvieron diferentes soluciones con concentraciones desde los 1,75 mg/L hasta los 28 mg/L y se inyectaron para cuantificar la concentración de aminoácidos de cada muestra.

III.6. ANÁLISIS SENSORIAL

III.6.1. Evaluación Sensorial (estudio de consumidores)

Se llevó a cabo un estudio sensorial de consumidores en el Gastrolab Hermanos Roca del Campus Universitario de Los Jerónimos de la Universidad Católica de Murcia. Un total de 141 participantes acudieron de forma voluntaria sin haber recibido formación o información previa. Las características del panel de consumidores que colaboró en el estudio se recogen en la Tabla III.2.

Tabla III.2. Características del panel de consumidores.

	% consumidores		% consumidores	
Sexo			Edad	
Hombre	52		18-35 años	96
Mujer	48		> 36 años	4
Consumo Habitual			Frecuencia	
Sí	94		Nunca	2
No	6		4 veces/mes	37
			> 4 veces/mes	61

El estudio se llevó a cabo en 3 sesiones en la que las muestras de jamón (IBR, BLR e IBT) fueron evaluadas mediante cuestionario triangular, descriptivo y hedónico con inclusión de preguntas abiertas siguiendo las normas UNE 87006

(AENOR, 1992b), UNE 87008 (AENOR, 1992a) y UNE 87020 (AENOR, 1993). Se recogieron datos sobre el hábito y frecuencia de consumo del producto en cuestión y de la valoración del aspecto, color, olor, textura, sabor salado, sabor global y aceptación general. A estos atributos se le asignó un valor numérico correspondiente a una escala verbal entre 1 (me disgusta mucho) y 5 (me gusta mucho). Además, se establecieron preguntas de preferencia de muestra (Figura III.10). Finalmente, se pidió a los consumidores que establecieran la intensidad con la que habían percibido cada atributo, estableciendo una escala de tres valores: ausencia, medio o muy intenso (Figura III.11).

Este mismo proceso se llevó a cabo para evaluar el tiempo óptimo de curación del nuevo jamón ibérico deshuesado. Se compararon las características sensoriales del jamón ibérico deshuesado (IBR₃₈) con éste mismo jamón, pero con una merma del 33% (IBR₃₃). Como muestra control se utilizó el jamón ibérico curado por el método tradicional (IBT₃₈). Para evitar la saturación de los consumidores se llevó a cabo en sesiones diferentes al estudio anterior.

Las muestras que se utilizaron fueron lonchas completas de un corte transversal de la pieza de 1 mm de espesor y marcadas con un número control formado por tres dígitos siguiendo el método establecido en las normas UNE-ISO 6658:2019 (AENOR, 2019) y UNE-ISO 4121 (AENOR, 2006).

Los resultados obtenidos se presentaron como la media de la puntuación dada por los consumidores, así como en porcentaje de hábito y frecuencia de consumo y de preferencia.

HOMBRE	MUJER
--------	-------

18-35 años	36 o más años
------------	---------------

Análisis sensorial. Estudio de consumidores

Producto: Jamón deshuesado			
¿Consumes habitualmente jamón curado? SI ___ NO ___			
Frecuencia de consumo:			
Nunca ___ 4 veces/mes ___ Más de 4 veces/mes ___			
Pruebe las tres muestras que tiene ante usted y asigne la calificación correspondiente a cada propiedad según la siguiente escala:			
<ol style="list-style-type: none"> 1. Me disgusta mucho 2. Me disgusta un poco 3. Ni me gusta ni me disgusta 4. Me gusta un poco 5. Me gusta mucho 			
	428	712	316
Aspecto			
Color			
Olor			
Textura			
Sabor salado			
Sabor global			
Aceptación general			
<ol style="list-style-type: none"> 1. Indique qué muestra prefiere de las tres <input type="text"/> 2. Entre la 428 y 712 ¿Cuál prefiere? <input type="text"/> 3. Entre la 712 y la 316. ¿Cuál prefiere? <input type="text"/> 			
Indique, brevemente, qué cualidades le hacen escoger cada muestra en los casos 1, 2 y 3.			
1.			
2.			
3.			

Figura III.10. Formulario descriptivo y hedónico para la comparación entre las diferentes muestras de jamones curados (página 1).

Indica la intensidad de cada uno de estos parámetros trazando una raya que corte verticalmente cada una de las escalas gráficas indicadas a continuación.

428

Color _____

Sabor _____

Salado _____

Dureza _____

Olor _____

Ausencia medio muy intenso

712

Color _____

Sabor _____

Salado _____

Dureza _____

Olor _____

Ausencia medio muy intenso

316

Color _____

Sabor _____

Salado _____

Dureza _____

Olor _____

Ausencia medio muy intenso

Muchas gracias por su colaboración

Figura III.11. Formulario descriptivo y hedónico para la comparación entre las diferentes muestras de jamones curados (página 2).

III.6.2. Análisis instrumental del color

El color instrumental se determinó mediante colorímetro (HunterLab Colorflex) empleando el sistema CIELab, expresándose el color mediante las coordenadas L^* , a^* y b^* ; donde L^* representa el índice de luminosidad (abarcando desde el valor 100, que se corresponde con el blanco absoluto, al valor 0, que se corresponde con el negro absoluto), a^* representa el índice de rojos-verdes, y b^* el índice de amarillos-azules y, mediante los valores del parámetro de saturación (Chroma) y el tono (H^*).

Para ello se cortó una loncha con una loncheadora Braher modelo MG300 (Gipuzcua) y se tomaron medidas por triplicado de los dos músculos situados en los dos extremos de la loncha, rotando la muestra 120 grados. El resultado se expresa como la media de las 6 mediciones realizadas.

III.6.3. Análisis instrumental de la textura

La textura fue analizada mediante un texturómetro QTS-25 (Brookfield CNS Farnell, Borehamwood, Herfordshire, Inglaterra) equipado con una célula de carga de 25 kg, una sonda de 10 mm de diámetro (Bourne et al., 1978). Para el análisis de datos se utilizó el promagra Texture Pro v. 2.1.

El músculo analizado fue el *Biceps femoris*. Se cortó en paralelepípedos de 10x10x10 mm, utilizando 3 paralelepípedos por muestra. La habitación se mantuvo a 20°C en el momento del análisis.

La prueba se realizó aplicando dos ciclos consecutivos a una velocidad constante de 30 mm/s y sometiendo la muestra a una compresión del 50% en dirección perpendicular a las fibras musculares.

El Análisis de Perfiles de Textura (TPA) se realizó sobre la dureza, deformación según dureza, adhesividad, cohesividad, deformación recuperable, elasticidad, gomosidad y masticabilidad.

III.7. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Se llevó a cabo siguiendo el método de Aaslyng et al., (2014) con algunas modificaciones. Se tomaron 25g de cada muestra de jamón en su fase final (Fase V). La toma de muestras se realizó por triplicado. Se realizaron diluciones decimales seriadas en una solución salina al 0,9% (Merck 106404) enriquecida con peptona al 0,1% (Merck 1.07214.1000). Las muestras se sembraron en Brain Heart Infusion (BHI) (Oxoid CM1136) y agar APT (All Purpose Tween) (Merck 1.10453.0500). Se incubaron en horno durante 5 días a una temperatura de 20 °C. Después de la incubación, la solución resultante se sembró en diferentes medios según el microorganismo estudiado para llevar a cabo la cuantificación: *Listeria monocytogenes* se sembró en agar Oxford (Scharlau Chemie SA, Barcelona, España) manteniendo el medio a 30°C durante 24h; *Salmonella* en SS-Agar (Sigma, 85640-500G) y *Staphylococcus* en agar de Baird Parker (Scharlau Chemie SA, Barcelona, España) a una temperatura de 37°C durante 24h; *E. coli* en Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) (Levine); *Clostridium* en Agar Tirptosa-Cicloserina-Sulfito (TSC) sin utilizar yema de huevo (SGL Lab Corby, U. K.); Aerobios mesófilos en PCA (Merck, 1.15363.0500); y, por último, Enterobacterias en Petrifilm (Diffchamb 6421).

III.8. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL JAMÓN

Se analizó en la Fase IV (IBR₃₃ y BLR₃₃) y en la Fase V (IBR, BLR e IBT) a partir del NNP obtenido previamente.

III.8.1. Evaluación de la actividad antihipertensiva (IECA) del jamón

Para la evaluación de la actividad antihipertensiva se realizó el estudio de la actividad IECA-I de los jamones mediante el método espectrofotométrico modificado por Sentandreu & Toldra, (2006). Se basa en la medición de la absorbancia del ácido hipúrico liberado en la reacción mediante espectrofotometría a 228 nm.

Se utilizó NNP para preparar sendas diluciones a diferentes concentraciones (0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 y 3 mg/mL). Con la ayuda de una pipeta multicanal se llenaron los pocillos de una microplaca con 50 µL de la muestra y 50 µL de solución de trabajo

ECA a una concentración de 7,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Se agitó la microplaca cuidadosamente durante unos segundos y se incubó a 37 °C durante 10 minutos y el sustrato en iguales condiciones.

La reacción enzimática se inició (T0) añadiendo 200 μL de solución de trabajo de sustrato. A continuación, se leyó la placa con el fluorímetro utilizando las longitudes de onda de excitación de 360/40 y emisión de 460/40. Tras esto se incubó la placa a 37 °C y se leyó de nuevo en base a los ajustes anteriores para todos los intervalos de tiempo deseados.

Los valores de actividad de la ECA se representaron como una función y se calculó la concentración de péptidos necesaria de la muestra para provocar una inhibición del 50% de la ECA o IC_{50} . Se hizo por duplicado. Para ello se prepararon diluciones seriadas con diferentes concentraciones del hidrolizado y se calculó el porcentaje de inhibición para cada una de ellas. Para obtener la ecuación de la recta ($y=ax+b$) se representaron gráficamente los resultados obtenidos y así se pudo obtener la concentración del hidrolizado que provoca una actividad de inhibición del 50% ($\text{IC}_{50}=(50-b)/a$).

III.8.2. Evaluación de la actividad antioxidante

Para determinar la actividad antioxidante de los jamones se siguió el método descrito por (Bersuder et al., 1998) con algunas modificaciones. Se valoró el porcentaje de desaparición del color púrpura inicial midiendo la absorbancia en el espectrofotómetro. La banda de absorción del medio disminuye desde 517 nm debido a que el radical DPPH se reduce en presencia de compuestos antioxidantes y desaparece. Cuanto mayor sea el porcentaje de desaparición, mayor será la actividad antioxidante.

Como reactivos se utilizaron 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (Aldrich) y Etanol puro (Scharlau).

En tubos de microcentrífuga se prepararon la solución control y la solución problema:

- Solución Control: 500 μL etanol + 500 μL de Agua destilada + 125 μL de DPPH al 0,02% (p/v).

- Solución Problema: 500 μ L etanol + 500 μ L de muestra + 125 μ L de DPPH al 0,02% (p/v).

Se dejan incubar durante 1 hora a temperatura ambiente y alejadas de la luz. Posteriormente se centrifuga a 10000g durante 2 minutos y se mide la absorbancia a 517nm en el espectrofotómetro. Una vez obtenidos los datos, se aplica la siguiente fórmula:

$$\% \text{ DPPH} = \frac{\text{Abs Control} - \text{Abs Sol Problema}}{\text{Abs Control}} \times 100$$

Se calculó también la actividad antioxidante equivalente al Trolox (TEAC) de las muestras (μ M Trolox/mg péptidos). Se realizó la representación gráfica de la recta patrón del porcentaje de DPPH frente a la actividad antioxidante en función de la concentración de Trolox (2-22 μ M) y se utilizó la ecuación de la recta obtenida $y=2.2725x + 10.224$, con un $R^2=0.9988$ (Figura III.12):

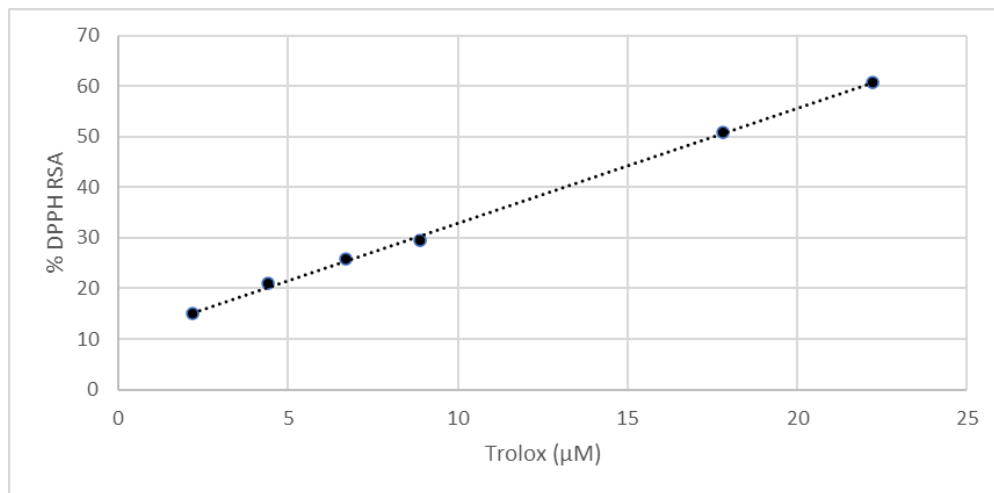


Figura III.12 Recta patrón de representación de la actividad antioxidante equivalente al Trolox (TEAC) a diferentes concentraciones (2-22 μ M).

Por último, se evaluó la concentración a la que se inhibe el 50% del radical DPPH (IC_{50}) utilizando la ecuación de la recta patrón obtenida.

III.1. IDENTIFICACIÓN DE LOS PÉPTIDOS.

Los péptidos fueron analizados en el Servicio de Proteómica de la Universidad de Córdoba a partir del NNP, siguiendo la metodología que a continuación se describe.

Se utilizó un equipo Dionex Ultimate 3000 nano UPLC (Thermo Scientific) para analizar las muestras mediante nanocromatografía líquida (nLC). El hidrolizado se cargó en una en una precolumna Pepmap Acclaim (Thermo Scientific) de 300 μm x 5 mm en una mezcla de acetonitrilo con una concentración del 2% y TFA al 0,05% durante 5 minutos, con un flujo de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$. La columna utilizada fue una C18 (75 μm x 50 cm) Acclaim Pepmap (Thermo Scientific). La discriminación de los péptidos se hizo a una temperatura de 40 °C, utilizando un tampón para la Fase Móvil A compuesto de agua y ácido fórmico al 0,1% y para la Fase Móvil B, acetonitrilo al 20% y ácido fórmico al 0,1%. La velocidad de separación utilizada fue de 300 nL/min.

Tras esto se utiliza la ionización por nanoelectrospray para transformar los cationes de los péptidos en iones gaseosos. Estos se analizaron en el equipo Thermo Orbitrap Fusion (Q-OT-Qit, Thermo Scientific), operando el espectrofotómetro de masas en modo positivo. Para la exploración de barrido de los precursores de péptidos con un tamaño entre 400 y 1500 m/z se optó por una resolución de 120 K (a 200 m/z) con detector de iones 5×10^5 . La MS en tándem se realizó por aislamiento con cuadrupolo a 1 Th seguido de fragmentación CID con una energía de colisión normalizada de 35 y posteriormente el análisis de barrido rápido de MS en trampa de iones. El detector iónico AGC se ajustó a 102, siendo el tiempo máximo de inyección de 75 ms. Sólo los precursores con estado de carga 2-6 se muestrearon para MS2. El tiempo de exclusión dinámica se fijó en 15 segundos con una tolerancia de 10 ppm entre los precursores seleccionados y sus isótopos. Asimismo, se activó la selección de precursores monoisotópicos. Los análisis se llevaron a cabo en modo velocidad máxima con tres ciclos. Es decir, el equipo llevó a cabo eventos MS2 de forma continua hasta que la lista de precursores no excluidos disminuyó a 0 o durante 3 segundos.

Los datos brutos se procesaron utilizando el programa Proteome Discoverer (versión 2.1.0.81, Thermo Scientific). Los espectros MS2 se buscaron en la base de

datos Uniprot_yourorganism_Aug2016 (www.uniprot.org) utilizando un motor SEQUEST HT. Se establecieron como variables de modificación para la búsqueda en la base de datos la digestión no enzimática de la metionina y la oxidación de la metionina. Se estableció una tolerancia para la masa de los precursores de 10 ppm y de 0,6 Da para sus iones. Las coincidencias de los espectros de los péptidos (PSM) fueron validados utilizando un percolador basado en valores-q de 1% FDR. Los péptidos identificados se agruparon por proteínas mediante el programa Proteome Discoverer, de acuerdo con el principio de parsimonia y se filtraron al 1% de FDR.

III.2. ANÁLISIS DE LA BIOACTIVIDAD DE LOS PÉPTIDOS IDENTIFICADOS

El análisis bioestadístico de los resultados obtenidos tras identificar los péptidos se ha realizado con el programa R versión 3.4.0. Se extrajeron los péptidos identificados para cada muestra con alta confianza y sin modificaciones post-traduccionales, además, de la respectiva cuantificación de la muestra (PSMs). A continuación, se normalizaron los valores de cuantificación teniendo en cuenta el total de PSMs de todos los péptidos identificados en las muestras.

Así, se consiguió que la cuantificación de un mismo péptido fuera comparable entre las diferentes muestras. Se realizó la búsqueda de cada uno de los péptidos identificados en la base de datos de péptidos bioactivos "BIOPEP" (Minkiewicz et al., 2019). Por un lado, se buscaron los péptidos que ya estarían en su forma bioactiva en cada muestra y, por otro, los péptidos con una bioactividad potencial debido a que contenían secuencias bioactivas en su estructura primaria.

Con esta información de la base de datos BIOPEP, se clasificaron aquellos péptidos que presentaban una misma bioactividad. Por último, se agruparon las muestras según la bioactividad destacada debido a la cuantificación de los péptidos y a la bioactividad de los mismos.

III.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo con el software Statistica en su versión 9.0 para Windows.

En el Estudio 1 se evaluó el efecto de la raza mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía.

Para el Estudio 2 se realizó un ANOVA de dos factores (raza y zona del jamón) donde se valoraron las características fisicoquímicas y composicionales. Este mismo proceso se siguió para comprobar la evolución de los parámetros fisicoquímicos y composicionales durante el proceso de curación desde la Fase I (materia prima) hasta la Fase V (producto final).

En el Estudio 3 se evaluó el efecto de la zona de la loncha (interna vs externa) y del tiempo (mitad vs final de la etapa) mediante un ANOVA de una vía en la etapa de postsalado.

En el Estudio 4 se utilizó un ANOVA de dos vías (raza y tiempo de procesado) para analizar los parámetros de composición, fisicoquímicos y en el contenido en sal de los jamones IBR y BLR. Tras esto se realizó un ANOVA de una vía para evaluar el efecto de la raza (IBR vs BLR) y del procesado (IBR vs IBT) en el producto final comparando los resultados entre las medias de los diferentes aspectos analizados: fisicoquímico, minerales, AAL, color y textura instrumental.

Además, con la finalidad de analizar si el tipo de procesado y la raza habían afectado a la calidad sensorial de los jamones, se realizó un ANOVA de una vía para los parámetros de aceptación sensorial y de intensidad.

Para el Estudio 5 se llevó a cabo un ANOVA de una vía entre jamones con diferente merma de curación, teniendo en cuenta cómo la variable tiempo afectó a los parámetros de color y textura instrumental de IBR, así como a los resultados del análisis sensorial con consumidores, determinando así el momento óptimo de curación.

Finalmente, en el Estudio 6 se utilizó un ANOVA de una vía para evaluar por separado el efecto de la raza (IBR vs BLR), el procesado (IBR vs IBT) y la merma (33% vs 38%) en la producción de actividad antioxidante y antihipertensiva.

Para todos ellos, en aquellos casos en los que el efecto de la zona fuera significativo ($p \leq 0.05$), los resultados se compararon por medio del test de Fisher LSD ($p \leq 0.05$).

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1. ESTUDIO 1: Caracterización de la materia prima.

Se determinó el peso, pH y el espesor de la grasa de la materia prima. Tanto el pH como el espesor de la grasa se midió en ST: semitendinoso y C: cuadrado para tener una media representativa de los jamones deshuesados. Los resultados se muestran en la Tabla IV.1:

Tabla IV.1. Caracterización de la materia prima fresca.

Raza	Peso (kg)	pH		Espesor de la grasa (cm)	
		ST	C	ST	C
Jamón ibérico	8.15±0.13	6.02±0.04	6.21±0.00	1.35±0.05	1.25±0.35
Jamón blanco	7.08±0.15	5.71±0.08	5.61±0.04	0.95±0.10	1.10±0.00
p-valor	0.044	0.018	0.004	0.070	0.071

Parámetros medidos en los músculos ST: semitendinoso y C: cuadrado.
ANOVA de una vía (efecto raza): no significativo = $p > 0.05$
Los resultados se expresan en g/100g como medias \pm SEM. SEM: error estándar de la media.

Los jamones ibéricos pesaron más que los jamones blancos ($p \leq 0.05$). Esto se debe a que según el Real Decreto 4/2014 (BOE, 2014), los animales de raza ibérica se sacrifican a una edad más tardía que los cerdos de capa blanca y, además, se exige que los cerdos ibéricos de cebo tengan un peso al sacrificio mínimo de 115 kg.

El valor de pH fue significativamente mayor ($p \leq 0.05$) en los jamones ibéricos deshuesados. Para la elaboración del jamón curado es importante controlar el pH de la materia prima fresca que debe estar entre 5,6 y 6,2, siendo normal que el pH de los jamones ibéricos sea más alto, incluso llegue a superar el límite superior (Ventanas, 2012). Por tanto, los perniles usados en el estudio están dentro del intervalo de pH óptimo. Valores por debajo de 5,6 darán lugar a carnes PSE (Palid, Soft, Exudative) que aparecen cuando los animales sufren un momento de estrés justo antes del sacrificio. Esto provoca una glicólisis muy intensa y produce la bajada rápida del pH, lo que podría resultar en problemas de textura debido a la

pérdida de la capacidad de retención de agua por la excesiva desnaturalización proteica (Banon et al., 1998; Gratacos-Cubarsi et al., 2013). Con valores por encima de 6,2 se obtendrá carne DFD (Dark, Firm, Dry) en las que, fundamentalmente, no se producirá una correcta difusión de la sal (Arnau, 2007; Martuscelli et al., 2015), pues la capacidad de retención de agua se ve aumentada y no permitiría que se produjese el intercambio agua-sal.

En cuanto al espesor de grasa, no se observaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre las razas, pero los valores medidos en el jamón ibérico deshuesado fueron mayores que en el jamón blanco. Según el Pliego de Condiciones de la ETG del Jamón Serrano (MAPA, 2008) la cantidad mínima admitida será de 0,8 cm. Es de esperar que el nivel de engrasamiento sea mayor en los jamones ibéricos que en los blancos debido a las diferencias observadas en cuanto a la cantidad de grasa entre ambas razas (Rosell & Toldra, 1998).

IV.2. ESTUDIO 2: Evaluación de la etapa de salado. Estudio del nivel de penetración de la sal y efecto de la raza.

Se evaluó cómo influye la parte del jamón en la penetración de la sal durante la etapa de salado y el efecto de la raza. Para ello se determinó la concentración de NaCl en tres localizaciones distintas de la muestra (zona magra, zona central y tocino) como se muestra en la Figura IV.1. Además, se determinaron los macro y microminerales y la composición. Los resultados se muestran en las Tabla IV.2 y Tabla IV.3.



Figura IV.1 Identificación de las zonas a analizar para el estudio de la penetración de la sal en la etapa de salado.

La humedad y el contenido en proteínas es significativamente diferente ($p \leq 0.05$) en función de la zona (grasa, central o magro) y de la raza (Tabla IV.2). La cantidad de proteína observada en la parte de grasa de los jamones IBR y BLR podría ser debido a restos de magro que hayan quedado en la muestra tras la separación de los cortes.

Tabla IV.2. Efecto de la zona de la loncha y la raza en la penetración de la sal y en las características fisicoquímicas en la etapa de salado.

	Grasa		Central		Magro		P-valor	
	IBR	BLR	IBR	BLR	IBR	BLR	zona	raza
Humedad	18.81±2.53 ^e	35.67±5.37 ^{de}	40.47±6.60 ^{bc}	54.56±0.08 ^{ab}	38.51±4.11 ^{cd}	52.52±0.12 ^a	0.049	0.038
Proteína	5.58±1.29 ^b	16.41±2.82 ^{bd}	19.16±5.38 ^{cd}	30.71±1.40 ^{ac}	20.70±2.10 ^{cd}	31.09±1.37 ^a	0.038	0.033
Cenizas	0.89±0.19 ^c	1.82±0.17 ^c	1.71±0.69 ^c	1.98±0.02 ^c	5.26±0.31 ^b	6.41±0.21 ^a	0.000	0.150
NaCl	0.77±0.13 ^b	1.30±0.07 ^b	1.03±0.39 ^b	0.80±0.13 ^b	4.99±0.50 ^a	5.44±0.29 ^a	0.000	0.571

ANOVA de dos vías ^{a, b, c, d, e} Los valores de la misma fila con diferente subíndice difieren significativamente en $p \leq 0.05$ (Test de Fisher LSD) (p-valor significativo en $p \leq 0.05$).
Los resultados se expresan en g/100g como medias \pm SEM. SEM: error estándar de la media.

La grasa está compuesta, fundamentalmente, por ácidos grasos, triglicéridos y compuestos volátiles. La escasa humedad de esta zona hace que el índice de difusión de los minerales sea bajo. El contenido en cenizas y, en concreto, en NaCl, difiere significativamente ($p \leq 0.05$) en función de la zona tanto en IBR como el BLR, siendo mayor en las zonas más magras, puesto que, además, la sal todavía no ha empezado a difundir a través de la pieza (Arnau et al., 1995). Por otro lado, a pesar de que el contenido en NaCl y cenizas en el jamón BLR es mayor que en IBR en todas las zonas, no hay diferencias significativas entre las razas ($p \geq 0.05$).

Existen diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre la concentración de la mayoría de los minerales presentes en la parte grasa (tocino) y en la parte central y magra del jamón. Claramente, en el tocino la concentración de los minerales es mucho menor que en la parte más magra. Por ejemplo, la concentración de Na es de $0,31 \pm 0,05$ g/100g y de $1,96 \pm 0,20$ g/100g en el tocino y en la parte magra de IBR, respectivamente. En los jamones BLR las diferencias que se aprecian son similares. Estos resultados confirman que la difusión de sal está siendo adecuada, quedando al final de la fase de salado la mayor concentración de Na en las zonas más magras.

La concentración de Na es mayor en BLR que en IBR, aunque no se detectaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$). Esto podría ser debido a las diferentes características del músculo entre ambas razas. La concentración y composición de la grasa intramuscular, así como el menor contenido en humedad del jamón ibérico, hacen que la velocidad de difusión de la sal sea mayor en los jamones de cerdo blanco (Arnau et al., 1995; Rosell & Toldra, 1998).

Tabla IV.3. Efecto de la zona de la loncha y la raza en los macro y microminerales en la etapa de salado.

	Grasa		Central		Magro		p-valor	
	IBR	BLR	IBR	BLR	IBR	BLR	zona	raza
Na ¹	0.31±0.05 _b	0.51±0.03 _b	0.41±0.16 _b	0.32±0.05 _b	1.96±0.20 _a	2.14±0.12 _a	0.000	0.571
K ¹	0.16±0.02 _c	0.28±0.03 _c	0.34±0.12 _{bc}	0.51±0.01 _{ab}	0.49±0.03 _{ab}	0.59±0.03 _a	0.034	0.126
Ca ¹	0.01±0.00 _b	0.01±0.00 _c	0.01±0.00 _c	0.01±0.00 _c	0.01±0.00 _{ab}	0.01±0.00 _a	0.019	0.887
Mg ¹	0.01±0.00 _c	0.02±0.00 _{cd}	0.02±0.01 _d	0.04±0.00 _{ab}	0.03±0.00 _{bd}	0.04±0.00 _a	0.018	0.013
P ²	0.07±0.01 _b	0.15±0.02 _{bc}	0.17±0.05 _c	0.30±0.01 _a	0.19±0.02 _c	0.29±0.01 _a	0.030	0.021
Fe ²	5.51±0.39 _c	11.09±2.05 _{bc}	9.71±2.89 _c	8.17±0.78 _c	38.41±5.92 _a	25.78±2.08 _b	0.005	0.520
Cu ²	1.13±0.11 _b	2.39±0.52 _{ab}	2.61±1.26 _{ab}	2.21±0.33 _{ab}	3.88±0.93 _a	1.82±0.15 _{ab}	0.675	0.697
Mn ²	0.14±0.02 _b	0.13±0.00 _b	0.15±0.06 _b	0.04±0.00 _b	4.04±2.22 _a	0.32±0.01 _b	0.565	0.519
Zn ²	7.27±0.89 _a	9.33±1.30 _a	20.99±6.67 _b	27.83±0.75 _b	23.51±2.31 _b	25.56±1.45 _b	0.033	0.426
B ²	0.17±0.09 _a	0.11±0.02 _a	0.05±0.01 _a	0.09±0.00 _a	0.16±0.08 _a	0.21±0.01 _a	0.581	0.886

ANOVA de dos vías a. b. c Los valores de la misma fila con diferente subíndice difieren significativamente en $p \leq 0.05$ (Test de Fisher LSD).

¹Resultados expresados en g/100g de producto (media ± SEM)

²Resultados expresados en mg/100g de producto (media ± SEM)

SEM: error estándar de la media.

Se observó, además, mayor concentración de minerales en la parte medial (magra) que podría ser debido a que el tejido graso tiene menor contenido en agua (Tabla IV.2) y con ello menor probabilidad de que los iones difundan a través de ella, así como menor capacidad de absorción de sal. Por ejemplo, la concentración de hierro se ve afectada significativamente ($p \leq 0.05$) por la zona del jamón, pasando en IBR y BLR, respectivamente, de 5,51±0,39 mg/100g y 11,09±2,05 mg/100g en la parte grasa, a 38,41±5,92 mg/100g y 25,78±2,08 mg/100g en la parte magra. Esta diferencia tan llamativa también se puede observar en el zinc que tiene una concentración de 7,27±0,89 mg/100g y 9,33±1,30 mg/100g en la parte grasa en IBR y BLR respectivamente y, sin embargo, en la parte magra la concentración es de

23,51±2,31 mg/100g y 25,56±1,45 mg/100g. Así, se considera que la penetración de los minerales durante la etapa de salado es la esperada en ambas razas, quedando validada esta etapa del proceso.

IV.3. ESTUDIO 3: Análisis de la difusión de sal en el jamón en la etapa de postsalado. Efecto del tiempo de procesado y la raza de cerdo.

Durante el proceso de curación del jamón uno de los acontecimientos más importantes que ocurre es la difusión simultánea que se produce entre el agua y la sal (NaCl) hacia el exterior e interior del magro respectivamente (Arnau et al., 1995). La fase de postsalado o reposo es decisiva en este aspecto, ya que es la primera fase donde se produce la difusión de la sal. El adecuado control de la fase de postsalado ayudará, por un lado, a evitar texturas demasiado blandas debidas al exceso de proteólisis durante el proceso de curación (Costa-Corredor et al., 2009) y, por otro, a equiparar el nivel de secado en el conjunto de la pieza, previniendo el encostramiento de la parte externa de la pieza, favorecido por un incorrecto y acelerado proceso que provoca el secado anormal y excesivo de la superficie cárnica (Bello Gutiérrez, 2008).

Con objeto de evaluar el efecto de la reducción de sal en los jamones ibéricos deshuesados, se ha estudiado la evolución de los parámetros fisicoquímicos, composicionales y la proteólisis en esta fase, en diferentes zonas del jamón ibérico (Figura IV.2), a la mitad y al final del postsalado de los jamones.

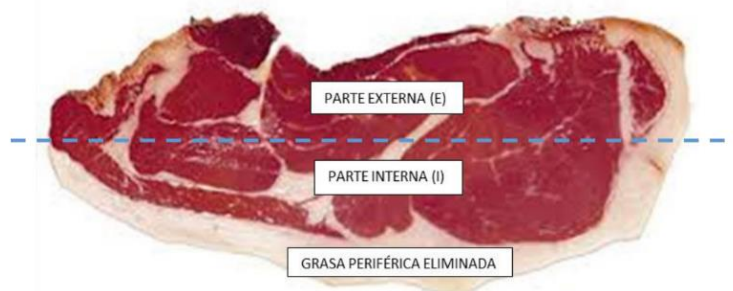


Figura IV.2. Zonas de análisis para el estudio de la difusión de sal en el jamón ibérico reducido en sal.

En la Tabla IV.4 se presenta la evolución de los parámetros fisicoquímicos y composición durante la etapa de postsalado en los jamones IBR, así como la influencia que ha tenido el paso del tiempo y las diferencias entre las distintas zonas de la loncha. Se puede observar como el porcentaje de proteína, grasa y aw se ven afectados significativamente ($p \leq 0.05$) por el tiempo que transcurre entre la mitad y el final del postsalado. Por otro lado, la evolución del proceso de curación también afectó a la proteólisis (IP y NNP) de forma significativa ($p \leq 0.05$).

Tabla IV.4. Evolución de los parámetros físico-químicos y de composición durante la etapa de postsalado en los jamones ibéricos reducidos en sal (IBR).

	Mitad de postsalado		Final de postsalado		p-valor	
	Interna	Externa	Interna	Externa	tiempo	zona
Humedad	63.73±2.00 ^a	60.00±1.23 ^b	65.36±1.32 ^a	60.87±1.32 ^b	0.421	0.018
Proteína	19.98±1.14 ^b	21.73±0.71 ^a	23.69±0.46 ^c	24.53±0.77 ^c	0.002	0.133
Grasa (ms)	24.64±4.39 ^b	23.20±3.18 ^b	13.12±1.95 ^a	19.31±1.71 ^b	0.025	0.444
Cenizas	7.70±0.39 ^a	9.95±0.72 ^{bc}	10.87±0.66 ^b	9.41±0.79 ^c	0.068	0.561
NaCl	2.21±0.08 ^b	3.31±0.18 ^a	2.99±0.06 ^c	2.86±0.12 ^c	0.205	0.002
aw	0.94±0.00 ^a	0.93±0.00 ^b	0.92±0.01 ^c	0.91±0.00 ^c	0.000	0.072
NNP	0.32±0.02 ^b	0.34±0.02 ^b	0.56±0.01 ^a	0.58±0.04 ^a	0.000	0.352
Índice Proteólisis	9.95±0.48 ^b	9.91±0.62 ^b	14.75±0.42 ^a	14.70±0.92 ^a	0.000	0.947

a, b, c Los valores de la misma fila con diferente subíndice difieren significativamente en $p \leq 0.05$ (Test de Fisher LSD). p-valor Tiempo: ANOVA de una vía (Mitad vs Final); p-valor Zona: ANOVA de una vía (Interna vs Externa) (p-valor significativo en $p \leq 0.05$).
Los resultados expresados en g/100g como medias ± SEM. SEM: error estándar de la media.

Los valores de proteína y grasa van aumentando a medida que la humedad disminuye con el proceso de secado. La aw, se afectó significativamente ($p \leq 0.05$) por el tiempo de postsalado. No obstante, no se observaron diferencias significativas entre distintas zonas, aunque, tanto a mitad del postsalado como al final de la fase, es mayor en la parte interna que en la externa. Durante el proceso de curado del jamón la aw se modifica debido al movimiento del agua desde las partes más internas hasta la superficie para su posterior evaporación a medida que la sal penetra a través de la musculatura. En la primera fase del postsalado, los músculos externos tienen un mayor contenido de sal y una menor aw. Posteriormente, durante el secado, la difusión del NaCl desde las zonas más

húmedas hacia el interior de la pieza (Arnau et al., 1995) hace que vaya disminuyendo la a_w también en esta zona. Incluso puede ocurrir que se inviertan los valores de sal (Hospital et al., 2017). Esto explicaría los resultados obtenidos en este estudio, ya que en la mitad de postsalado el contenido en sal del exterior de la loncha ($3,31 \pm 0,18$) es mayor que en el interior ($2,21 \pm 0,08$), siendo significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). Sin embargo, al final del postsalado el contenido de sal de la parte externa ($2,86 \pm 0,12$) es menor que el de la parte interna ($2,99 \pm 0,06$), no habiendo diferencias significativas entre ellos ($p \geq 0,05$). Estos datos quedan confirmados con los resultados obtenidos para el análisis de Na que se muestran en la Tabla IV.5.

La a_w llega a alcanzar valores por debajo de 0.92 al final del postsalado en la parte más magra de la loncha (externa). Estos valores se consideran adecuados en cuanto a seguridad alimentaria ya que el crecimiento de *C. botulinum* se inhibiría con $a_w < 0,97$ (Pinna et al., 2020). Sin embargo, habría que esperar a que avanzase algo más el proceso para que el jamón no favoreciese el crecimiento de *L. monocytogenes*, pues ésta podría soportar valores de a_w entre 0.90 y 0.92 (Hospital et al., 2017).

Se observa un incremento del nitrógeno no proteico (NNP) y, por tanto, del índice de proteólisis según avanza el proceso (de valores cercanos a 9,90% en la mitad de la fase, pasa a superar el 14% al final de la etapa). Los fenómenos de proteólisis comienzan a aparecer probablemente debido a la acción temprana de las endopeptidasas (catepsinas y calpaínas) que pasan a disminuir su actividad a medida que avanza el proceso de curación (Toldra & Etherington, 1988).

En la Tabla IV.5 se representa el contenido de macro y microminerales de las dos zonas estudiadas a la mitad y final del postsalado. En este caso, estos niveles de minerales son los inherentes a la carne, pues no se ha añadido ningún ingrediente adicional a la mezcla de sales.

En general, la concentración de minerales no se vio afectada significativamente ($p \geq 0,05$) por el tiempo ni por la zona. Sólo se observaron diferencias en el contenido en K y Fe, siendo las concentraciones significativamente mayores al final de postsalado. El contenido en hierro de la carne de cerdo es de 1.35 mg/100g. En el jamón curado los niveles de este mineral se mantienen entre 1.8

y 3.3 mg/100g (Jimenez-Colmenero et al., 2010). Este elemento es fundamental en el desarrollo del color rojo de la carne del jamón debido a que la mioglobina pertenece al grupo de las porfirinas en cuyo anillo se encuentra un átomo de hierro

Tabla IV.5. Evolución de los macro y microminerales durante la etapa de postsalado en los jamones ibéricos reducidos en sal (IBR).

	Mitad de postsalado		Final de postsalado		P-valor	
	Interna	Externa	Interna	Externa	Tiempo	Zona
Na ¹	0.70±0.11 _b	1.01±0.13 _a	0.82±0.02 _b	0.87±0.07 _{ab}	0.863	0.044
K ¹	0.36±0.03 _b	0.35±0.02 _b	0.45±0.01 _a	0.44±0.02 _a	0.003	0.823
Ca ¹	0.01±0.01 _a	0.01±0.00 _a	0.01±0.00 _a	0.01±0.00 _a	0.290	0.763
Mg ¹	0.02±0.00 _{ab}	0.02±0.00 _b	0.02±0.00 _{ab}	0.03±0.00 _a	0.195	0.688
P ¹	0.16±0.01 _c	0.17±0.02 _{bc}	0.18±0.01 _{ab}	0.20±0.01 _a	0.068	0.304
Fe ²	3.22±0.14 _b	3.63±0.12 _c	3.73±0.04 _c	3.97±0.15 _a	0.004	0.020
Cu ²	10.13±0.96 _b	16.32±2.95 _a	11.86±0.83 _b	18.15±1.19 _a	0.320	0.003
Mn ²	1.54±0.29 _{ab}	1.97±0.48 _{ab}	1.23±0.34 _b	2.25±0.45 _a	0.973	0.092
Zn ²	0.36±0.10 _b	1.06±0.73 _{ab}	0.86±0.56 _{ab}	1.62±0.72 _a	0.383	0.234
B ²	25.03±3.61 _{bc}	34.31±5.36 _a	21.94±0.97 _c	30.75±3.18 _{ab}	0.378	0.029

^{a, b} Los valores de la misma fila con diferente subíndice difieren significativamente en $p \leq 0.05$ (Test de Fisher LSD). p-valor Tiempo: ANOVA de una vía (Mitad vs Final); p-valor Zona: ANOVA de una vía (Interna vs Externa) (p-valor significativo en $p \leq 0.05$).

¹Resultados expresados en g/100g de producto (media \pm SEM)

²Resultados expresados en mg/100g de producto (media \pm SEM)

SEM: error estándar de la media.

Los resultados demuestran que el cambio de procesado permitió que la fase de postsalado se llevase a cabo de una forma correcta. La difusión de la sal a través de las piezas de IBR siguió la evolución esperada con la particularidad de que la etapa tuvo una duración media de 120 días, 30 días más de lo que suele durar en el jamón ibérico curado de forma tradicional. Otros estudios corroboran que con la reducción de sal es necesario un postsalado más largo para conseguir el mismo nivel de secado en los jamones (Barat et al., 2013; Costa-Corredor et al., 2009).

IV.4. ESTUDIO 4: Evaluación del efecto del tipo de procesado y de la raza de cerdo sobre las características fisicoquímicas, bioquímicas, microbiológicas y sensoriales de los jamones.

IV.4.1. Parámetros fisicoquímicos, contenido de sal y parámetros microbiológicos.

La Tabla IV.6 muestra la evolución de los parámetros fisicoquímicos y el contenido de sal de los jamones curados deshuesados y reducidos en sal procedentes de cerdos ibéricos y de cruce de cerdo blanco a lo largo del proceso de elaboración.

El procesado modificó significativamente todas las características físico-químicas estudiadas en los jamones deshuesados de ambas razas.

Tabla IV.6. Efecto de la fase de procesado y la raza en los parámetros fisicoquímicos y en el contenido de sal de los jamones curados deshuesados.

		Fase del proceso					p-valor	
		I	II	III	IV	V	Fase del proceso	Raza
Humedad	IBR	53.12±1.31 _a	52.82±1.77 _a	47.12±2.11 _a	37.35±1.83 _b	31.59±1.26 _b	0.000	0.000
	BLR	57.82±6.93 _a	56.65±1.58 _a	53.49±1.71 _a	52.08±1.29 _a	51.46±0.64 _a		
Grasa	IBR	25.00±1.43 _{bc}	21.10±2.32 _{abc}	22.77±2.37 _{abc}	27.42±2.00 _{cd}	33.87±1.94 _d	0.028	0.000
	BLR	17.34±4.54 _{abc}	16.18±1.00 _{ab}	17.61±1.43 _{ab}	16.72±1.01 _{ab}	15.99±0.46 _a		
Proteína	IBR	15.00±0.35 _b	16.48±0.90 _{ab}	19.53±0.30 _{ac}	22.32±0.73 _c	22.13±1.19 _c	0.000	0.000
	BLR	16.10±1.53 _{ab}	17.92±0.10 _{ab}	20.43±0.50 _{ac}	28.31±0.55 _d	29.68±0.52 _d		
N ^{Total}	IBR	2.40±0.06 _b	2.63±0.14 _{ab}	3.13±0.05 _{ac}	3.57±0.12 _c	3.54±0.19 _c	0.000	0.000
	BLR	2.57±0.25 _{ab}	2.87±0.02 _{ab}	3.27±0.08 _{ac}	4.53±0.09 _d	4.75±0.08 _d		
Nitrógeno No Proteico	IBR	0.25±0.06 _a	0.18±0.07 _a	0.30±0.07 _a	0.48±0.31 _{ab}	0.74±0.16 _{bc}	0.000	0.000
	BLR	0.34±0.09 _{ab}	0.26±0.11 _a	0.33±0.13 _a	1.25±0.42 _d	1.04±0.18 _{cd}		
Ind. proteólisis	IBR	10.54±0.86 _a	6.73±1.42 _a	9.50±1.10 _a	13.88±3.62 _{ab}	20.90±1.24 _{bc}	0.000	0.012
	BLR	13.45±2.24 _{abc}	9.01±1.87 _a	10.07±1.97 _a	27.85±5.82 _c	22.02±1.59 _{bc}		
NaCl	IBR	0.51±0.27 _d	1.96±0.69 _a	1.99±0.17 _a	2.79±0.14 _{abc}	2.86±0.21 _{abc}	0.000	0.016
	BLR	0.16±0.02 _d	2.33±0.08 _{ab}	2.43±0.13 _{ab}	3.64±0.18 _{bc}	3.77±0.20 _c		
Cenizas	IBR	2.21±0.51 _c	5.58±1.65 _{abc}	5.59±0.68 _{abc}	5.44±0.48 _{ab}	5.68±0.85 _{ab}	0.000	0.000
	BLR	2.39±0.44 _{bc}	8.81±0.88 _{ad}	6.84±0.61 _{ad}	10.92±0.85 _d	10.41±0.40 _d		

ANOVA de dos vías ^{a,b,c,d} Los valores de la misma fila con diferente subíndice difieren significativamente en p ≤ 0.05 (Test Fisher LSD). Los resultados están expresados en g/100g (media ± SEM). SEM: error estándar de la media.

Como era de esperar, el contenido en humedad del jamón curado IBR se vio reducido de manera muy significativa (p<0.001), principalmente entre la Fase IV:

secado y la Fase V: producto final. El contenido de grasa intramuscular se incrementó ($p \leq 0.05$) al igual que el de proteína. Para el contenido en proteína, el aumento fue más marcado entre la materia prima fresca (Fase I) y el jamón en Fase IV (secado), no observándose diferencias significativas entre los valores del producto final y las fases de transformación previas. Este hecho se observó en las dos razas estudiadas. De igual modo, esta evolución también se ha observado en el nitrógeno no proteico (NNP). Éste aumentó significativamente, sobre todo, en los jamones en la Fase III (final de postsalado), y de producto final (Fase V) ($p \leq 0.001$), también en ambas razas. En consecuencia, el índice de proteólisis también aumentó durante el procesado ($p \leq 0.001$). En el caso del jamón ibérico se han descrito porcentajes de NNP frente al contenido en nitrógeno total del 25-27% (Córdoba, 1990). El aumento de la actividad proteolítica de los jamones curados durante su fase de maduración (Fases IV y V) se ha relacionado con el aumento de la temperatura que tiene lugar en esta fase de fabricación, dando lugar a una mayor actividad de las enzimas proteolíticas (Martín et al., 1998) y las modificaciones de los parámetros físico-químicos que se han observado están en consonancia con lo que se ha observado de forma general durante el procesado de otros jamones curados (Bermudez et al., 2014; Sirtori et al., 2020).

La concentración de NaCl y cenizas también se vio incrementada de forma significativa ($p \leq 0.001$) desde el inicio del postsalado. Esto se debe principalmente a la incorporación de sales durante el proceso de nitrificación y salado. Claramente se observa el incremento de los niveles de NaCl entre las Fases I y II (materia prima fresca e inicio de postsalado) tanto en IBR como en BLR. Lo mismo sucedió entre el final del postsalado y las dos últimas fases. La pérdida de humedad que se produce durante el proceso hace que la cantidad de NaCl se concentre en el magro y aumente. Como era de esperar, también se observó la concentración de los niveles de cenizas del jamón curado BLR (Tabla IV.6), ya que alcanzó su nivel máximo en las últimas dos fases del proceso de producción. Sin embargo, los valores de cenizas para el jamón curado IBR se mantuvieron estables desde la Fase II (final de postsalado) hasta la Fase V (producto final).

Se observó que con la metodología escogida hubo una buena difusión de la sal (NaCl) durante todo el proceso, teniendo un contenido de NaCl en el producto final (Fase V) de 3,77% en el jamón curado BLR y 2,86% en el jamón curado IBR. La

correcta difusión de la sal durante el procesado es importante debido a las funciones que tiene este ingrediente. No sólo podría afectar a la textura, el sabor o el aroma del producto, sino que asegurará una calidad microbiológica adecuada (Guardia et al., 2006).

La raza influyó en los valores de humedad ($p \leq 0.001$), de grasa ($p \leq 0.001$), de proteína ($p \leq 0.001$), de nitrógeno total ($p \leq 0.001$), de NNP ($p \leq 0.001$), en el índice de proteólisis ($p \leq 0.05$), en el contenido de NaCl ($p \leq 0.05$) y de cenizas ($p \leq 0.001$) a lo largo del proceso de curación.

Los valores de humedad y de proteína fueron significativamente más altos en el jamón curado BLR ($p \leq 0.001$) en todas las fases del proceso. Sin embargo, con el contenido de grasa sucedió al contrario. Como era de esperar, el jamón curado IBR presentó más del doble de grasa que el jamón curado BLR ($p \leq 0.001$), como consecuencia del alto potencial adipogénico de las razas de cerdo nativas (Pugliese & Sirtori, 2012). Estas diferencias entre el contenido de grasa y proteína también han sido previamente observadas (Lorido et al., 2015).

Los valores de NNP fueron significativamente más altos en BLR ($p \leq 0.001$) a lo largo de todo el proceso. Como era de esperar, el índice de proteólisis fue significativamente más bajo en el jamón curado IBR ($p \leq 0.05$) debido a la mayor tasa de actividad de las catepsinas y calpaínas que tienen los cruces de cerdo blanco (Rosell & Toldra, 1998). Por el contrario, Cordoba, Rojas, et al., (1994) describieron que la proteólisis en jamones ibéricos frescos podría ser superior a la de otros tipos de jamón como podría ser el de Parma, debido al mayor tiempo de curado necesario y a las altas temperaturas alcanzadas durante el proceso. El índice de proteólisis fue mayor en ambas razas que los descritos por (Schivazappa & Virgili, 2020) en jamones italianos reducidos en sal procedentes de cruces de raza Large White, Landrace y Duroc.

Es esencial que haya un control adecuado de las fases de secado durante la curación de jamones reducidos en sal, siendo necesario la prolongación de algunas fases del proceso con el objetivo de evitar problemas de textura e incluso de aroma (Benedini et al., 2012).

La concentración de NaCl y de cenizas también fue más alta en el jamón curado BLR ($p \leq 0.001$) a lo largo de todo el proceso. En consonancia con la reducción

de sal, la concentración de NaCl en IBR y BLR fue menor que las descritas por algunos autores en el producto final de jamones curados procedentes de cruces de cerdo blanco y croata (entre 7,01% y 5,76%) (Petricevic et al., 2018) y otras razas nativas (5,75%) (Salazar et al., 2015).

En la Tabla IV.7 se representa el efecto de la raza y del tipo de procesado en los valores fisicoquímicos y en el contenido en NaCl en el producto final de los jamones blancos e ibéricos estudiados (IBR, IBT y BLR). Como era de esperar, el tipo de procesado no afectó significativamente ($p \geq 0,05$) a la humedad, la grasa, la proteína o al nitrógeno total. Sí se observan diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre ambas razas.

Tabla IV.7. Efecto de la raza y el tipo de procesado en los parámetros fisicoquímicos y en el contenido en sal de los jamones ibéricos y blancos en Fase V: producto final.

		Humedad	Grasa	Proteína	N _{Total}	NNP	IP	NaCl
Tipo de jamón	IBT	28.57±3.85 ^a	32.24±1.70 ^a	22.18±0.71 ^a	3.55±0.11 ^a	0.56±0.24 ^a	18.58±0.14 ^a	4.11±0.84 ^b
	IBR	31.59±1.26 ^a	33.87±1.94 ^a	22.13±1.19 ^a	3.54±0.19 ^a	0.74±0.16 ^a	20.90±1.24 ^a	2.86±0.21 ^a
	BLR	51.46±0.64 ^b	15.99±0.46 ^b	29.68±0.52 ^b	4.75±0.08 ^b	1.04±0.18 ^b	22.02±1.59 ^a	3.77±0.20 ^b
p-valor	Procesado	0.259	0.652	0.979	0.979	0.186	0.413	0.008
	Raza	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004	0.584	0.011

^{ab} Los valores de la misma columna con diferente subíndice difieren significativamente en $p \leq 0.05$ (Test Fisher LSD). p-valor Procesado: ANOVA de una vía (IBR vs IBT); p-valor Raza: ANOVA de una vía (IBR vs BLR) (p-valor significativo en $p \leq 0.05$).

Los resultados están expresados en g/100g (media ± SEM). SEM: error estándar de la media.

En el jamón ibérico curado de forma tradicional (IBT) el valor medio de contenido de NaCl fue de 4,11 g/100g, por lo que hubo una reducción significativa ($p \leq 0,05$) que superó el 30% (30,41%), comparando este valor con el obtenido en el jamón curado IBR (2,86 g/100g). Por otro lado, para el jamón curado BLR, se observó una reducción del 27,5% frente al contenido medio de los jamones blancos curados de forma tradicional (5,20%) (ANICE, 2017). De acuerdo con el anexo del Reglamento (CE) n° 1924/2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables de los alimentos (BOE, 2006), el reclamo “Reducido en sal” podría incluirse en el etiquetado de estos productos debido a que se ha reducido su contenido en sal en más de un 25% con respecto a los productos de la misma categoría. En algunos jamones típicos italianos, (Pinna et al., 2020) también se

consiguieron reducir de forma considerable el contenido en sal modificando la cantidad de sal añadida y el tiempo de salado de los jamones.

El índice de proteólisis fue menor en IBT que en IBR en el producto final (Fase V), aunque no se observaron diferencias significativas, como se ha descrito en otros estudios (Perez-Palacios et al., 2011). El NNP se vio significativamente afectado por la raza ($p \leq 0,05$), pero no por el tipo de procesado ($p \geq 0,05$), a pesar de ser menor en IBT. Otros autores sí observaron diferencias significativas en la actividad proteolítica entre los jamones curados de forma tradicional y con unos niveles de sal más altos y aquéllos con menor cantidad de NaCl (Martín et al., 1998).

IV.4.2. Minerales

En la Tabla IV.8 se muestra la composición mineral de los jamones BLR e IBR durante todas las fases del proceso.

La concentración de Na, K, Mg y P se modificó significativamente ($p \leq 0.001$) por el procesado y la raza de cerdo. La concentración del resto de minerales no se ha modificado significativamente ($p \geq 0.05$), a excepción del Zn que sí se ha afectado significativamente ($p \leq 0.05$) por el procesado. Las mayores concentraciones se dan en las últimas fases. La concentración de K, Mg, P, Fe y Zn es mayor que las publicadas en estudios anteriores en jamón ibérico (Jimenez-Colmenero et al., 2010). Al contrario, los niveles de Na y Mn son mayores y los niveles de Ca similares. Para los micronutrientes B y Cu no se han encontrado estudios de referencia. Tanto IBR como BLR podrían ir acompañados de la declaración "Alto contenido en hierro" (mínimo 4,1 mg Fe/100g de producto). El Fe es un micronutriente esencial para evitar el desarrollo de anemia y el procedente del jamón curado pertenece al grupo hemo que se considera que tiene mejor biodisponibilidad (Lucarini et al., 2013). Esta declaración podría ir acompañada de la declaración de propiedades saludables "El hierro contribuye: al funcionamiento normal de la función cognitiva, metabolismo energético, formación de glóbulos rojos, funcionamiento del sistema inmune, disminuir el cansancio y ayuda al proceso de división celular". Otra de las declaraciones que se podría utilizar en el jamón IBR sería "Fuente de Potasio" (mínimo 300 mg K/100g de producto), mientras que BLR tendría "Alto contenido en Potasio" (mínimo 600 mg K/100g) y

ambos con la declaración de propiedades “El potasio contribuye al funcionamiento normal del sistema nervioso, funcionamiento muscular y mantenimiento de la tensión arterial”. Ambos podrían etiquetarse con “Alto contenido en Fósforo” (mínimo 210 mg F/100g producto) junto con la declaración de propiedades “El fósforo contribuye al metabolismo energético, funcionamiento de membranas celulares y mantenimiento de huesos y dientes”.

Tabla IV.8. Efecto de la fase de procesado y de la raza en la composición mineral de los jamones deshuesados.

	Fase de procesado					p-valor		CDR	
	I	II	III	IV	V	Fase de procesado	Raza		
Na ¹	IBR	0.23±0.08 _a	0.83±0.32 _b	0.81±0.11 _b	1.01±0.11 _{bc}	1.13±0.14 _c	0.000	0.000	0.006
	BLR	0.15±0.00 _a	1.24±0.14 _c	1.16±0.11 _c	1.75±0.17 _{de}	1.54±0.08 _d			
K ¹	IBR	0.23±0.04 _a	0.28±0.03 _a	0.30±0.02 _a	0.33±0.03 _a	0.45±0.03 _{ab}	0.000	0.000	2000
	BLR	0.28±0.05 _a	0.34±0.01 _a	0.39±0.02 _a	0.96±0.04 _b	0.64±0.02 _b			
Ca ¹	IBR	0.02±0.01 _a	0.01±0.00 _a	0.02±0.00 _a	0.01±0.00 _a	0.01±0.00 _a	0.536	0.673	800
	BLR	0.01±0.00 _a	0.01±0.00 _a	0.02±0.00 _a	0.01±0.00 _a	0.02±0.01 _a			
Mg ¹	IBR	0.02±0.00 _a	0.02±0.00 _a	0.02±0.00 _a	0.02±0.00 _a	0.03±0.00 _{ab}	0.000	0.001	375
	BLR	0.02±0.00 _a	0.02±0.00 _a	0.03±0.00 _a	0.04±0.00 _b	0.04±0.00 _b			
P ¹	IBR	0.15±0.05 _a	0.16±0.01 _a	0.18±0.01 _a	0.20±0.01 _a	0.23±0.02 _a	0.000	0.000	700
	BLR	0.16±0.03 _a	0.19±0.01 _a	0.23±0.01 _a	0.34±0.01 _b	0.31±0.01 _b			
Fe ²	IBR	9.66±0.56 _a	6.75±0.80 _a	5.69±1.05 _a	14.13±5.48 _a	11.66±1.03 _a	0.133	0.737	14
	BLR	8.06±1.68 _a	7.75±0.60 _a	8.33±1.60 _a	14.26±2.78 _a	13.02±3.83 _a			
Cu ²	IBR	1.39±0.57 _a	1.06±0.26 _a	0.70±0.14 _a	3.86±1.96 _a	1.5±0.27 _a	0.577	0.537	1
	BLR	0.32±0.12 _a	1.62±0.69 _a	1.41±0.14 _a	1.24±0.59 _a	1.79±0.23 _a			
Mn ²	IBR	0.62±0.38 _a	0.15±0.02 _a	0.27±0.04 _a	0.29±0.05 _a	0.10±0.03 _a	0.478	0.541	2
	BLR	0.31±0.17 _a	0.21±0.08 _a	0.20±0.04 _a	0.12±0.05 _a	0.26±0.011 _a			
Zn ²	IBR	21.64±1.80 _{ab}	15.91±7.80 _a	16.56±2.42 _a	21.53±2.70 _{ab}	24.59±1.74 _{bc}	0.000	0.169	10
	BLR	16.47±3.22 _a	19.76±2.53 _a	18.83±2.44 _a	26.69±1.58 _{bc}	29.76±2.90 _c			
B ²	IBR	0.78±0.53 _a	0.36±0.06 _a	0.18±0.06 _a	0.34±0.06 _a	0.47±0.08 _a	0.882	0.538	No declarado
	BLR	0.14±0.06 _a	0.21±0.06 _a	0.36±0.01 _a	0.38±0.19 _a	0.51±0.15 _a			

ANOVA de dos vías ^{a,b,c,d} Los valores de la misma fila con diferente subíndice difieren significativamente en $p \leq 0.05$ (Fisher LSD Test).

¹ Resultados expresados en g/100g de producto (media ± SEM).

² Resultados expresados en mg/100g de producto (media ± SEM).

Y, por último, también se podría etiquetar la declaración “Alto contenido en Zinc” (mínimo 3 mg Zn/100g de producto) en los dos tipos de jamón y acompañarla de la declaración de propiedades saludables “El zinc contribuye al metabolismo normal de hidratos de carbono, síntesis del ADN, función cognitiva, metabolismo de ácidos grasos, fertilidad normal, metabolismo normal de la vitamina A,

mantenimiento de piel, cabello, uñas y huesos y funcionamiento del sistema inmune, visión normal y previene el estrés oxidativo. Todas estas declaraciones nutricionales y declaraciones de propiedades saludables están reguladas por el Reglamento (CE) 1924/2006 (BOE, 2006).

De acuerdo con lo descrito en la Tabla IV.6 y en el estudio de difusión de sal, el Na aumenta desde la Fase II del procesado (postsalado), teniendo siempre una mayor concentración en BLR que en IBR. En la Figura IV.3 se puede apreciar la evolución del Na a lo largo del proceso de elaboración de los jamones BLR e IBR.

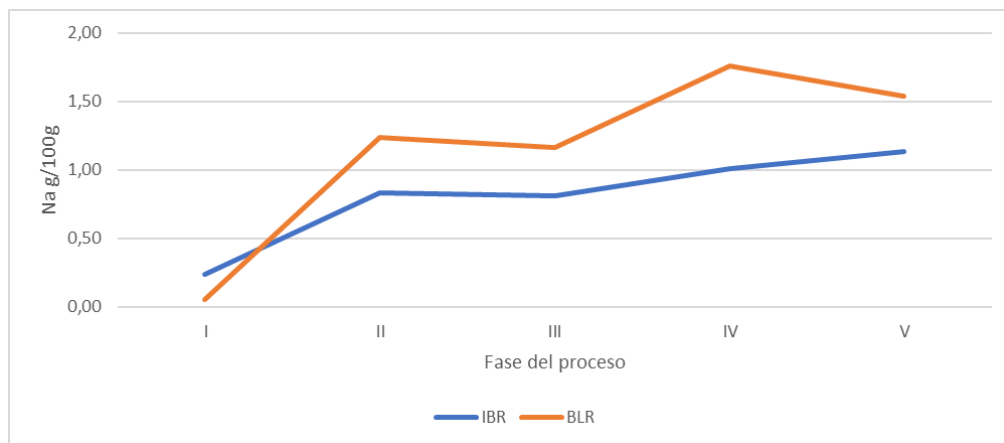


Figura IV.3. Evolución de la concentración de Na en los jamones IBR y BLR a lo largo del proceso de curación.

Como era de esperar, tanto en los jamones blancos como ibéricos deshuesados, el Na se va concentrando a medida que se avanza en el proceso de curación. Esto es debido a la pérdida de agua acontecida a lo largo del tiempo que hace que el nivel de Na se concentre más en la pieza (Arnau et al., 1995). Para ambos tipos de jamones, el proceso de elaboración permite la correcta difusión de la sal en el producto.

IV.4.3. Aminoácidos libres

En la Tabla IV.9 se expone el efecto del procesado (IBR vs IBT) y la raza (IBR vs BLR) en la concentración de los AAL.

Tabla IV.9. Efecto del procesado y de la raza en el contenido de aminoácidos libres (AAL).

AAL	Tipo de jamón curado			p-valor	
	IBT	IBR	BLR	Procesado	Raza
Asp	2.08±0.06	2.05±0.54	1.94±0.74	0.962	0.921
Glu	3.98±0.11	4.26±1.04	4.87±0.92	0.809	0.706
Ser	1.51±0.05	1.34±0.21	1.83±0.47	0.530	0.443
His	0.91±0.02	1.00±0.25	1.17±0.25	0.760	0.677
Gly	1.23±0.01	1.42±0.40	1.79±0.37	0.685	0.566
Thr	1.45±0.03	1.32±0.28	1.81±0.30	0.685	0.352
Arg	1.75±0.16	1.06±0.02	1.32±0.22	0.051	0.368
Ala	4.02±0.14	4.70±1.06	5.67±0.46	0.590	0.489
Tyr	0.70±0.01	0.89±0.16	1.44±0.47	0.377	0.384
Cys	nd	nd	nd	-	-
Val	2.10±0.05	2.22±0.53	2.51±0.53	0.847	0.732
Met	0.53±0.21	0.64±0.23	0.79±0.01	0.764	0.580
Phe	1.42±0.15	1.56±0.38	1.82±0.35	0.765	0.669
Ile	1.48±0.09	1.64±0.44	1.90±0.42	0.760	0.706
Leu	2.43±0.19	2.65±0.71	3.21±0.79	0.786	0.654
Lys	3.73±0.10	4.13±1.15	5.00±1.17	0.766	0.649
Pro	1.87±0.01	1.96±0.40	2.18±0.25	0.837	0.688
Total AAL	31.19±0.38	32.84±7.76	39.26±7.71	0.852	0.617

Los resultados se expresan en g/kg de materia seca como la media ± SEM. SEM: error estándar de la media. nd: no detectado.

p-valor Procesado: ANOVA de una vía entre IBT e IBR; p-valor Raza: ANOVA de una vía (IBR e BLR) (p-valor significativo en $p \leq 0.05$).

Ninguno de los AAL estudiados se vio afectado significativamente ($p > 0.05$) por el tipo de procesado de los de jamones ibéricos (curado de forma tradicional o reducido en sal curado sin hueso). Estos resultados también se observaron en el contenido total de AAL ($p > 0.05$). Por lo tanto, la proteólisis llevada a cabo por peptidasas no se vio afectada de forma significativa ($p > 0.05$) por la reducción de sal (30%), aunque el contenido total de AAL fue mayor en los jamones curados IBR. Estos resultados no concuerdan con los descritos en el estudio de (Cittadini et al., 2020) donde se observó un aumento de la actividad proteolítica a medida que el contenido en NaCl se reducía.

Abellan et al., (2018), describieron que la concentración de aminoácidos refleja el grado de proteólisis alcanzado durante el proceso de curación de los productos cárnicos. Así, teniendo en cuenta los niveles del índice de proteólisis, NNP (Tabla IV.6) y el total de AAL (Tabla IV.9) se puede afirmar que, en este

estudio, el nivel de proteólisis del jamón ibérico siguió la evolución esperada a pesar de la reducción del contenido de sal. Estudios como el de Lorenzo, Cittadini, et al., (2015) afirman que las reacciones proteolíticas en los productos cárnicos se ven influidas cuando se reemplaza de forma parcial el sodio.

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre la concentración de AAL de los jamones deshuesados de ambas razas, lo que coincide con lo descrito por Krvavica et al., (2021) quienes afirmaron que no hubo efecto de la raza en la concentración de AAL en los jamones curados procedentes de dos genotipos distintos de cerdos croatas.

Las diferencias en el índice de proteólisis entre las dos razas estudiadas (Tabla IV.6) podría ser debido a la actividad de las proteasas (catepsinas y calpaínas) del jamón curado BLR a lo largo del proceso de curación. Sin embargo, en la fase final, no se observaron diferencias ni en el índice de proteólisis ni en la concentración de AAL. Esto podría ser debido a que la actividad de las peptidasas no se vio afectada por la raza de cerdo. La concentración de aminoácidos resultado de la intensa proteólisis producida contribuye, de forma general, al desarrollo de las características sensoriales del producto final (Toldra & Flores, 1998).

Los tres AAL que se presentan en mayor proporción al final del procesado tanto en IBT como en IBR e BLR son el ácido glutámico, alanina y lisina. Estos resultados coinciden con los observados en el jamón ibérico al final del procesado (Cordoba, Antequera, et al., 1994), así como en el jamón serrano (Flores et al., 1997). Los valores encontrados para jamón ibérico son superiores a los citados en otros tipos de jamones como el de Parma o el serrano. Por lo que pueden ser considerados como un componente distintivo frente a otros jamones. Entre los ibéricos, también existen variaciones según la forma de procesado (Ventanas, 2001).

IV.4.4. Estabilidad microbiológica del nuevo producto

La Tabla IV.10 refleja el resultado del análisis microbiológico de IBR y BLR al final del proceso de curación. Principalmente aparece ausencia en 25g para *L. monocytogenes* y *Salmonella spp.* Los demás grupos bacterianos (*E. coli*, *S. aureus*, *C. botulinum* y *Enterobacterias*) tuvieron un resultado menor a $1,0 \times 10^1$ ufc/g. El máximo para aerobios mesófilos fue $5,5 \times 10^4$ ufc/g para IBR y $5,8 \times 10^4$ ufc/g para BLR. Por

otro lado, la a_w media para IBR fue de $0,88 \pm 0,004$, teniendo un máximo de 0,90 y de $0,90 \pm 0,007$ para BLR con un máximo de 0,91, que podría explicarse por el mayor contenido en humedad de éste (Tabla IV.6).

Tabla IV.10. Resultados del estudio microbiológico en el IBR y BLR al final del proceso de curación.

Microorganismos	IBR	BLR
<i>L. monocytogenes</i> (en 25 g)	AUSENCIA	AUSENCIA
<i>Salmonella spp</i> (en 25 g)	AUSENCIA	AUSENCIA
<i>E. coli</i> (ufc/g)	$<1.0 \times 10^1$	$<1.0 \times 10^1$
<i>S. aureus</i> (ufc/g)	$<1.0 \times 10^1$	$<1.0 \times 10^1$
<i>C. botulinum</i> (ufc/g)	$<1.0 \times 10^1$	$<1.0 \times 10^1$
Aerobios mesófilos (ufc/g)	1.06×10^4	$1,3 \times 10^4$
<i>Enterobacterias</i> (ufc/g)	$<1.0 \times 10^1$	$<1.0 \times 10^1$

Cuando se reduce el contenido en sal de los jamones es importante comprobar que el alimento no favorecerá el crecimiento de microorganismos patógenos (Fulladosa et al., 2009). Estos resultados reflejan que los nuevos jamones IBR y BLR son viables a nivel de seguridad alimentaria y que tiene una calidad microbiológica óptima sin necesidad de sustituir la sal por algún otro conservante. En estudios realizados en diferentes productos cárnicos algunos autores han encontrado mayor crecimiento en aquéllos en los que se ha utilizado sustitutos de la sal (Lorenzo, Bermudez, et al., 2015), y otros que coinciden con estos resultados y no han observado diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (Marta Alino et al., 2010; Blesa et al., 2008). Los valores de a_w obtenidos en este estudio no favorecerían el crecimiento de microorganismos patógenos como *C. botulinum* o *L. monocytogenes* (Hospital et al., 2017; Pinna et al., 2020). Los autores afirman que la reducción del contenido en sodio de los jamones hace que sea necesario un aumento del tiempo de curación para que la seguridad alimentaria del producto sea la adecuada (Pinna et al., 2020; Virgili et al., 2007).

IV.4.5. Color instrumental y perfil de textura.

En la Tabla IV.11 se muestra el efecto del procesado y de la raza en el color instrumental. Los resultados se expresan en medias \pm SEM.

Tabla IV.11. Efecto del procesado y de la raza en la valoración instrumental del color.

Parámetro de color	Tipo de jamón curado			p-valor	
	IBT	IBR	BLR	Procesado	Raza
L*	47.22±4.23	53.03±1.79	57.88±0.85	0.165	0.164
a*	24.70±2.96	23.36±1.62	20.72±1.06	0.692	0.392
b*	27.34±5.26	28.46±1.24	31.09±3.19	0.758	0.363
Chroma	37.26±4.61	37.09±1.30	37.47±2.70	0.961	0.891
H°	47.01±6.44	50.75±2.52	55.99±3.04	0.519	0.298

Los resultados se expresan como la media ± SEM. SEM: error estándar de la media.
p-valor Procesado: ANOVA de una vía entre IBT e IBR; p-valor Raza: ANOVA de una vía (IBR e BLR) (p-valor significante en p≤0.05).

Los parámetros de color instrumental no se vieron afectados por los diferentes tipos de procesado en los jamones ibérico curados ($p > 0.05$), coincidiendo con el estudio que realizaron Lorenzo, Bermudez, et al., (2015) sustituyendo parcialmente el NaCl por otras sales en el lacón curado. Sin embargo, Tejada et al., (2021) sí observaron diferencias en los parámetros de color debido a las diferentes formulaciones del salado en otros derivados cárnicos como el chorizo curado. En su trabajo describieron un aumento de la luminosidad (L^*), de b^* , C^* y h° en aquéllos que se salaron con una formulación tradicional (NaCl como ingrediente principal). Por otro lado, no se observan diferencias significativas entre razas en los parámetros de color ($p > 0.05$ en todos los casos). Otros estudios no encontraron diferencias significativas en los parámetros de color entre jamones de diferente raza o línea (Carrapiso & Garcia, 2008; del Olmo et al., 2013). Los rangos para los valores de L^* , a^* y b^* obtenidos, tanto en los dos procesados de jamones de cerdo ibérico (IBT e IBR) y para el jamón curado BLR, fueron mayores que los obtenidos por Bermudez et al., (2014) en los jamones de cerdos celtas.

La Tabla IV.12 muestra el efecto del procesado en los jamones ibéricos y el efecto de la raza sobre los parámetros de textura instrumental.

Tanto la raza como las modificaciones en el proceso de curación afectaron a la Dureza C1 ($p \leq 0.001$ y $p \leq 0.05$ respectivamente), a la Cohesividad C2 ($p \leq 0.001$ y $p \leq 0.05$ respectivamente), a la Gomosidad C2 ($p \leq 0.001$ en ambos casos), a la Masticabilidad C2 ($p \leq 0.05$ y $p \leq 0.001$ respectivamente) y a la Dureza C2 ($p \leq 0.001$ en ambos casos). Todos los parámetros de textura estudiados fueron mayores en IBR

que en IBT. A pesar de las diferencias obtenidas en los parámetros de textura (TPA), los consumidores no percibieron el efecto del procesado entre los dos jamones ibéricos estudiados como se expondrá a continuación en la Tabla IV.13. Por otro lado, el TPA confirma que existen diferencias en el análisis sensorial de ambas razas, y así lo valoran los consumidores, puntuando con valores más elevados la textura de IBR que la de BLR (Tabla IV.13).

Tabla IV.12. Efecto del procesado y de la raza en la valoración instrumental de la textura.

Parámetro de textura	Tipo de jamón curado			p-valor	
	IBT	IBR	BLR	Procesado	Raza
C1 Dureza (N)	6.89±0.95	8.61±0.31	5.84±0.54	0.041	0.000
C1 Deformación de la dureza (mm)	2.95±0.07	2.97±0.00	2.93±0.05	0.684	0.179
C1 Adhesividad (mJ)	0.72±0.09	1.03±0.39	0.57±0.09	0.249	0.121
C2 Cohesividad	6.10±0.74	7.93±0.38	4.99±0.03	0.021	0.000
C2 Deformación recuperable (mm)	0.53±0.05	0.60±0.03	0.56±0.02	0.091	0.152
C2 Elasticidad (mm)	0.95±0.19	1.14±0.10	1.10±0.01	0.122	0.558
C2 Gomosidad (N)	1.56±0.03	2.12±0.08	1.81±0.04	0.000	0.000
C2 Masticabilidad (mJ)	3.11±0.36	5.16±0.39	3.59±0.60	0.000	0.023
C2 Dureza (N)	5.42±0.90	10.97±0.87	6.03±0.23	0.001	0.000

Los resultados se expresan como media ± SEM. SEM: error estándar de la media. N: Newton; mJ: milijulios; mm: milímetros.

p-valor Procesado: ANOVA de una vía entre IBT e IBR; p-valor Raza: ANOVA de una vía (IBR e BLR) (p-valor significativo en $p \leq 0.05$).

Estos resultados coinciden de los obtenidos en jamones chinos donde la cohesividad y la elasticidad disminuyó en los jamones con mayor concentración de sal (Zhou et al., 2020). Sin embargo, en este mismo estudio, la dureza y la adhesividad aumentaron significativamente con el aumento de la concentración de sal, lo que difiere de los resultados obtenidos en los jamones ibéricos de este estudio. Por otro lado, estos datos coinciden con los descritos por Tejada et al., (2021) en otros productos cárnicos de porcino. Los autores reflejaron que la reducción de sal afectaba a la dureza, la cohesividad, la gomosidad y la masticabilidad. En el análisis de parámetros de textura de este estudio, la dureza presentó valores más altos en los productos reducidos en sal. Diversos autores

relacionan este fenómeno con el efecto inhibitorio de la sal frente a las catepsinas, reduciendo la actividad proteolítica. Por tanto, se puede concluir que la proteólisis en el jamón curado IBR no afectó a la dureza (Tabla IV.12). Por otro lado, los resultados difieren de los obtenidos por otros autores donde aseguran que a medida que aumenta el índice de proteólisis, disminuye la dureza (Ruiz-Ramirez et al., 2006). Sin embargo, no sucede así con los valores entre IBT e IBR. En cuanto a la influencia de la raza, los valores más altos de dureza en IBR podrían estar relacionados con el menor contenido de agua con respecto a BLR (Tabla IV.6) (Ruiz-Ramirez et al., 2005).

Cittadini et al., (2020) también estudiaron la sustitución parcial de NaCl por otras sales cloradas en los parámetros de textura (dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad) de la cecina, un producto curado similar a los productos curados, pero a diferencia de este estudio, ellos sólo encontraron diferencias significativas en la elasticidad.

IV.4.6. Análisis sensorial de consumidores (aceptación y preferencia)

La Tabla IV.13 muestra los valores de aceptabilidad dados por el panel de consumidores a los jamones curados IBT, IBR e BLR y a Tabla IV.14 muestra la intensidad con la que percibieron los atributos sensoriales de cada muestra.

Tabla IV.13. Efecto del procesado y la raza en la aceptabilidad del producto según el panel de consumidores.

Aceptación sensorial	Tipo de jamón curado			p-valor	
	IBT	IBR	BLR	Procesado	Raza
Apariencia	3.66±0.13	4.17±0.15	2.62±0.16	0.061	0.006
Color	3.83±0.12	4.13±0.13	2.68±0.15	0.159	0.021
Olor	3.55±0.15	3.87±0.13	2.89±0.13	0.200	0.008
Textura	3.81±0.11	3.98±0.14	2.83±0.13	0.232	0.013
Sabor salado	3.57±0.13	3.87±0.13	2.87±0.13	0.252	0.001
Sabor global	3.96±0.12	4.06±0.10	2.81±0.14	0.224	0.002
Aceptación global	4.00±0.12	4.09±0.12	2.57±0.123	0.220	0.005

Los resultados están expresados como media ± SEM. SEM: error estándar de la media.

p-valor Procesado: ANOVA de una vía entre IBT e IBR; p-valor Raza: ANOVA de una vía (IBR e BLR) (p-valor significativo en $p \leq 0.05$).

Tabla IV.14. Efecto del procesado y la raza en la intensidad de los atributos sensoriales según el panel de consumidores.

Intensidad	Tipo de jamón curado			p-valor	
	IBT	IBR	BLR	Procesado	Raza
Int. Color	7.35±0.26	6.40±0.26	4.52±0.32	0.011	0.000
Int. Sabor	6.65±0.32	7.22±0.27	4.39±0.28	0.174	0.000
Int. Sabor salado	5.49±0.32	5.94±0.27	5.47±0.36	0.288	0.303
Int. Dureza	4.57±0.32	4.12±0.35	5.83±0.31	0.339	0.000
Int. Olor	6.49±0.29	6.12±0.29	4.61±0.30	0.371	0.001

Los resultados están expresados como media ± SEM. SEM: error estándar de la media.

p-valor Procesado: ANOVA de una vía entre IBT e IBR; p-valor Raza: ANOVA de una vía (IBR e BLR) (p-valor significativo en $p \leq 0.05$).

Teniendo en cuenta la forma de procesado (deshuesado y reducción de sal), el panel de consumidores puntuó todos los atributos del jamón curado IBR (Tabla IV.13 y Tabla IV.14) sin diferencias significativas con respecto a IBT ($p > 0.05$), a excepción de la intensidad del color que fue mayor en el ibérico tradicional. Según estos datos, cabría pensar, que los consumidores prefieren el color menos intenso de IBR. Por lo tanto, la reducción del contenido en sal y el deshuese no afectó a la aceptación de los atributos sensoriales por parte de los consumidores en el jamón ibérico, ya que valoraron todos los parámetros con puntuaciones similares en ambos tipos de jamón. Estos resultados coinciden con otros estudios realizados en productos curados, donde la palatabilidad y la textura no se vieron afectadas por la reducción de sal frente al método de curado tradicional (Gomez et al., 2020). En otros productos como el jamón cocido sí se ha descrito que la textura, el sabor y la aceptación por el consumidor se vieron afectadas de forma significativa debido a la reducción del contenido en sal (Delgado-Pando et al., 2018). Por otro lado, en jamones curados tipo italiano procedentes de cerdo blanco cruzado, se observó mejor aceptabilidad en aquellos jamones en los que se redujo el contenido en sal respecto a jamones curados de forma tradicional (Schivazappa & Virgili, 2020).

La aceptación global para ambos tipos de jamón ibérico curado (IBR e IBT) fue valorada con una puntuación media de 4 (Me gusta) en una escala del 1 al 5, por lo que se puede concluir que el jamón ibérico curado está bien aceptado entre los consumidores.

En cuanto a la influencia de raza sobre el producto final, todas las características sensoriales estudiadas obtuvieron una puntuación mayor para el jamón curado IBR respecto al BLR ($p \leq 0.05$) (Tabla IV.13 y Tabla IV.14). A pesar de encontrar diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el sabor salado, los consumidores no manifiestan que haya una diferencia en la intensidad de este sabor entre ambas razas. Así pues, los consumidores valoran mejor el jamón elaborado a partir de jamones de cerdos ibéricos que de cerdos de capa blanca, que podría ser debido a la percepción de forma más intensa de los atributos de sabor, olor y sabor (Tabla IV.14).

La grasa intramuscular que caracteriza a cada jamón se describe como el principal atributo de su composición que influye en las características organolépticas del mismo (Affentranger et al., 1996). En el presente estudio, el contenido en grasa intramuscular fue significativamente mayor en el jamón curado IBR que en BLR (Tabla IV.6), por lo que los datos coinciden con otros estudios realizados en productos curados procedentes de cerdos ibéricos (Ventanas et al., 2007) y en otras razas (Salazar et al., 2013) donde se observó que los productos obtenidos a partir de razas autóctonas fueron mejor valorados por los consumidores.

En el estudio de preferencia, un 63,83% de los consumidores se decantó por IBR, frente al 29,79% que escogió el IBT y, finalmente un 6,38% prefirió el BLR. Estos resultados muestran que los consumidores escogerían el jamón ibérico reducido en sal antes que los otros dos jamones ofrecidos. Además, la puntuación de "aceptación global" fue más alta en el jamón IBR. Así, desde el punto de vista del consumidor, la reducción del contenido de sal no solo no afectó negativamente a la aceptación del producto, sino que la mejoró.

Por último, a pesar de no haber encontrado diferencias significativas en la aceptación del sabor salado (Tabla IV.13), en el momento en el que se compararon los dos jamones ibéricos (IBR e IBT), un 70% de los consumidores escogió el jamón ibérico reducido en sal.

IV.5. ESTUDIO 5: Determinación del momento óptimo de curación.

Determinar el tiempo óptimo de curación en el jamón curado es un aspecto importante y no existe en la industria un acuerdo de en qué momento hay que pasar un jamón de una etapa a otra (Narvaez-Rivas et al., 2013). En AROMAIS, tras años de experiencia en el curado de jamones de cerdo blanco, el momento óptimo de curación se considera cuando el jamón ha alcanzado el 38% de merma. Pero según el pliego de condiciones de la ETG del Jamón Serrano, éste se considera listo para su venta con una merma alcanzada del 33% (MAPA, 2008). En este estudio se compararon la fase de secado (33% de merma) con la fase de producto final (38% de merma) para determinar el momento óptimo de curación. Para ello se tuvieron en cuenta los resultados de las características fisicoquímicas obtenidos en los estudios anteriores y los parámetros de color y textura instrumental de ambas fases, así como el análisis sensorial realizado con consumidores.

Según lo descrito en los estudios anteriores realizados en este proyecto, no existen diferencias significativas a nivel fisicoquímico (Tabla IV.6) ni en la composición mineral del jamón (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) entre las fases de secado (Fase IV) y la fase de producto final (Fase V). Tampoco se observaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre los jamones ibéricos con 33% de merma y los jamones con 38% en los parámetros de color instrumental (Tabla IV.15).

Tabla IV.15. Efecto del tiempo de curación en los parámetros de color instrumental de IBR.

Parámetro de color	Tipo de jamón curado		p-valor
	IBR33	IBR38	Tiempo
L*	46.55±6.41	53.03±1.79	0.193
a*	26.22±1.79	23.36±1.62	0.454
b*	24.74±6.04	28.46±1.24	0.321
Chroma	36.49±2.82	37.09±1.30	0.847
H°	42.75±8.92	50.75±2.52	0.242

ANOVA de una vía: p-valor Tiempo entre IBR33 vs IBR38 (p-valor significativo en $p \leq 0.05$). Los resultados se expresan como la media \pm SEM. SEM: error estándar de la media.

Estos resultados coinciden con los descritos para jamones de cerdo Duroc y de raza Large White donde no se observaron diferencias significativas en L*, a* y b* entre las dos últimas fases del procesado (del Olmo et al., 2013).

Tabla IV.16. Efecto del tiempo de curación en los parámetros de textura instrumental de IBR.

Parámetro de textura	Tipo de jamón curado		p-valor
	IBR33	IBR38	Tiempo
C1 Dureza (N)	5.49±0.52	8.61±0.31	0.006
C1 Deformación de la dureza (mm)	2.97±0.01	2.97±0.00	0.272
C1 Adhesividad (mJ)	0.48±0.12	1.03±0.39	0.163
C2 Cohesividad	5.06±0.49	7.93±0.38	0.009
C2 Deformación recuperable (mm)	0.50±0.01	0.60±0.03	0.023
C2 Elasticidad (mm)	0.98±0.01	1.14±0.10	0.124
C2 Gomosidad (N)	1.73±0.06	2.12±0.08	0.014
C2 Masticabilidad (mJ)	2.79±0.33	5.16±0.39	0.008
C2 Dureza (N)	4.98±0.62	10.97±0.87	0.005

ANOVA de una vía: p-valor Tiempo entre IBR33 vs IBR38 (p-valor significativo en p≤0.05). Los resultados se expresan como media ± SEM. SEM: error estándar de la media.

A nivel sensorial se realizó un estudio de consumidores comparando el IBR33 con el IBR38, para comprobar si fuese aceptable disminuir la merma establecida por AROMAIS para el producto final. Los resultados se exponen en la Tabla IV.17.

Tabla IV.17. Efecto del tiempo de curación en la aceptabilidad del IBR según un panel de consumidores.

Aspectos sensoriales	Tipo de jamón curado		p-valor
	IBR33	IBR38	Tiempo
Apariencia	3.26±0.15	4.71±0.09	0.000
Color	3.31±0.13	4.60±0.11	0.000
Olor	3.45±0.16	4.26±0.11	0.000
Textura	3.50±0.12	4.10±0.12	0.001
Sabor salado	3.26±0.16	4.07±0.14	0.000
Sabor global	3.55±0.14	4.33±0.12	0.000
Aceptación global	3.38±0.15	4.50±0.11	0.000

ANOVA de una vía: p-valor Tiempo entre IBR33 vs IBR38 (p-valor significativo en p≤0.05). Los resultados están expresados como media ± SEM. SEM: error estándar de la media.

Según el panel de consumidores, a pesar de no haber diferencias significativas a nivel fisicoquímico y mineral entre ambas fases, existen diferencias

muy significativas ($p \leq 0.001$) en todos los aspectos sensoriales valorados, siendo el mejor puntuado el jamón IBR con una merma del 38%. Además, el 85,71% de los consumidores que participaron escogieron la muestra IBR38 frente al 14,29% que prefirieron el jamón IBR33. Estos resultados confirman que el momento óptimo de curación definido en AROMAIS es el adecuado.

Otros estudios proponen predecir el tiempo óptimo de curación del jamón estudiando la evolución de los diacilglicéridos o los ácidos grasos poliinsaturados (Narvaez-Rivas et al., 2013). Sin embargo, no existen estudios de estimación del tiempo de curación óptimo en jamones curados reducidos en sal.

IV.6. ESTUDIO 6: Estudio de la bioactividad en jamones con diferente merma (33 y 38%). Efecto de la raza y el procesado.

El jamón curado se ha identificado como una fuente de péptidos bioactivos que podrían tener efectos beneficiosos en la salud del consumidor (Escudero et al., 2012; Escudero et al., 2014; Mora et al., 2016; Wang et al., 2021). Existen estudios que evalúan la bioactividad de péptidos procedentes de jamones curados reducidos en sal (Heres et al., 2022), sin embargo, no existen estudios en jamones deshuesados y posteriormente curados y reducidos en sal.

Con carácter general, se ha estudiado la bioactividad in vitro de las diferentes muestras de jamón, con una merma del 33% (IBR₃₃ y BLR₃₃) y las consideradas producto final con una merma del 38% (IBR₃₈, BLR₃₈, IBT₃₈).

IV.6.1. Evaluación de la actividad antioxidante (DPPH) en jamones con diferente merma de curación (33 y 38%).

El estudio del radical DPPH para evaluar la actividad antioxidante de las muestras se ha descrito como un procedimiento adecuado para este fin (Huang et al., 2005).

En la Figura IV.4 se observa la evolución de la actividad antioxidante in vitro en función de la concentración de péptidos de los jamones con distinto procesado y diferente merma. En general, todas las muestras presentan mayor actividad antioxidante cuanto mayor es la concentración de péptidos. BLR₃₈ tiene mayor

actividad antioxidante, llegando a alcanzar un 75% de inhibición. En IBR₃₈, también se observa un incremento de la actividad antioxidante conforme avanza el proceso de curación, siendo más alta que en IBR₃₃. IBT₃₈ presenta menor actividad antioxidante que BLR₃₈ y similar a IBR₃₈. El jamón con menor actividad antioxidante fue IBR₃₃ en todas las concentraciones de péptidos estudiadas.

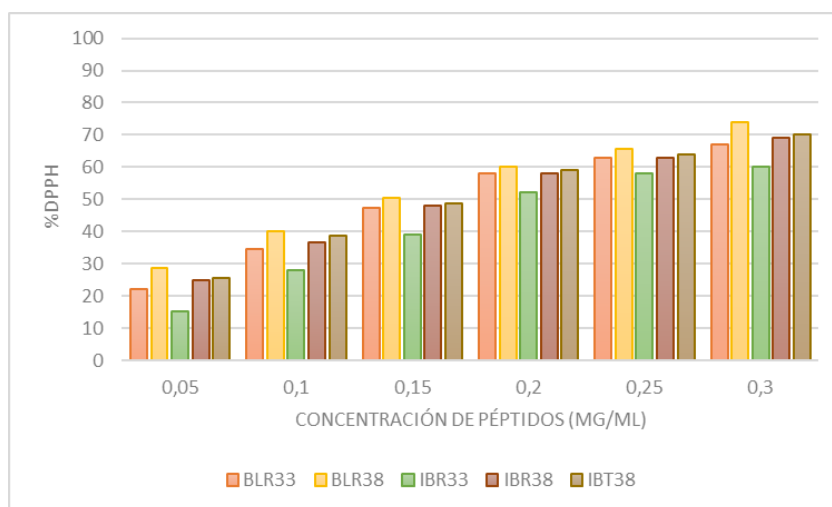


Figura IV.4. Evolución de la actividad antioxidante *in vitro* en función de la concentración de péptidos en jamones con merma de curación 33% y 38%.

En la Tabla IV.18 se presentan los valores de IC₅₀ obtenidos para cada muestra y el efecto de la raza y el procesado en la actividad antioxidante de los jamones IBT₃₈, IBR₃₈ y BLR₃₈. La raza influyó significativamente ($p \leq 0.05$) en la captación del radical DPPH en estas muestras, al igual que para IBR₃₃ y BLR₃₃ (Tabla IV.19). Sin embargo, la reducción de sal y el deshuesado no influyeron en la actividad antioxidante de las muestras, a pesar de que fue mayor en IBT₃₈. Los jamones BLR₃₈ serían los que mayor actividad antioxidante tendrían, puesto que alcanzan la IC₅₀ con una menor concentración de péptidos (0.155 ± 0.013 mg/mL). Estos datos coincidirían con el mayor índice de proteólisis obtenido en los jamones blancos (Tabla IV.6) debido a la mayor actividad de las catepsinas y calpaínas de esta raza (Toldra & Flores, 1998). En jamones serranos se han identificado péptidos que inhiben el 50% de la actividad antioxidante a una concentración de 1.5 mg/mL

(Escudero, et al., 2013b). Los jamones de Jinhua al este de China, consiguen inhibir el 50% de la actividad antioxidante a una concentración menor, en concreto, de 1 mg/mL (Zhu et al., 2013). Sin embargo, en estudios posteriores, los jamones de Jinhua alcanzarían el 50% de la inhibición a 2.5 mg/mL y los jamones de Xuanwei a una concentración de 4.5 mg/mL (Xing et al., 2018). A diferencia de los resultados de este estudio, otros han demostrado que la carne procedente de cerdos ibéricos puros y cruzados con Duroc tendría menor predisposición a la oxidación que aquéllas de razas de cerdo blanco (Hernandez et al., 2004). Otros afirmarían que los productos cárnicos como el jamón ibérico tienen una mayor capacidad antioxidante que la propia carne fresca u otros alimentos como el vino tinto (Martinez et al., 2014).

Tabla IV.18. Efecto de la raza y el procesado en la actividad antioxidante en jamones con una merma de curación del 38%.

Formulación	Tipo de jamón curado			p-valor	
	IBT ₃₈	IBR ₃₈	BLR ₃₈	Raza	Procesado
DPPH (IC ₅₀)	0.173±0.054 _a	0.199±0.048 _a	0.155±0.013 _a	0.048	0.455

Los resultados se expresan en mg/mL como la media ± SEM. SEM: error estándar de la media.
p-valor raza: ANOVA de una vía IBR vs BLR; p-valor procesado: ANOVA de una vía IBT vs IBR (p-valor significativo en $p \leq 0.05$).

Tabla IV.19. Efecto de la raza en la actividad antioxidante de los jamones con una merma de curación del 33%.

Formulación	Tipo de jamón curado		p-valor
	IBR ₃₃	BLR ₃₃	Raza
DPPH (IC ₅₀)	1.888±0.041 _b	0.197±0.013 _a	0,001

Los resultados se expresan en mg/mL como la media ± SEM. SEM: error estándar de la media.
p-valor raza: ANOVA de una vía IBR vs BLR (p-valor significativo en $p \leq 0.05$).

Por otro lado, los resultados de la Tabla IV.20 reflejan que tanto para los jamones ibéricos como blancos reducidos en sal el aumento del tiempo de curación afecta significativamente ($p \leq 0.05$) a la capacidad antioxidante de las muestras, siendo mayor en IBR₃₈ y BLR₃₈. Esto podría ser debido al aumento que se observa

en la actividad proteolítica en las últimas fases de curación (IV y V), generalmente relacionada con el aumento de temperatura (Martín et al., 1998).

Tabla IV.20. Efecto de la merma en la actividad antioxidante de los jamones ibéricos y blancos reducidos en sal (IBR y BLR).

Formulación	Tipo de jamón curado		
	IBR	BLR	
DPPH (IC ₅₀)	Merma 33%	1.888±0.041 _b	0.197±0.013 _b
	Merma 38%	0.199±0.048 _a	0.155±0.013 _a
p-valor	Merma	0.000	0.043

Los resultados se expresan en mg/mL como la media ± SEM. SEM: error estándar de la media.
p-valor raza: ANOVA de una vía merma 38% vs merma 33% (p-valor significativa en $p \leq 0.05$).

Los resultados muestran que la capacidad antioxidante de los jamones aumenta a la vez que avanza el proceso de curación, no viéndose afectada por la reducción de sal en el jamón ibérico. Los jamones curados serían una buena fuente de actividad antioxidante a pesar de contener agentes pro-oxidantes como son la sal o el hierro hemo y el oxígeno (Jimenez-Colmenero et al., 2010; Uetake et al., 2015).

IV.6.2. Evaluación de la actividad antihipertensiva (IECA-I) en jamones con diferente merma de curación (33 y 38%).

En la Figura IV.5 se observa la evolución de la actividad IECA a lo largo del ensayo en función de la concentración de péptidos en los jamones con diferente merma de curación.

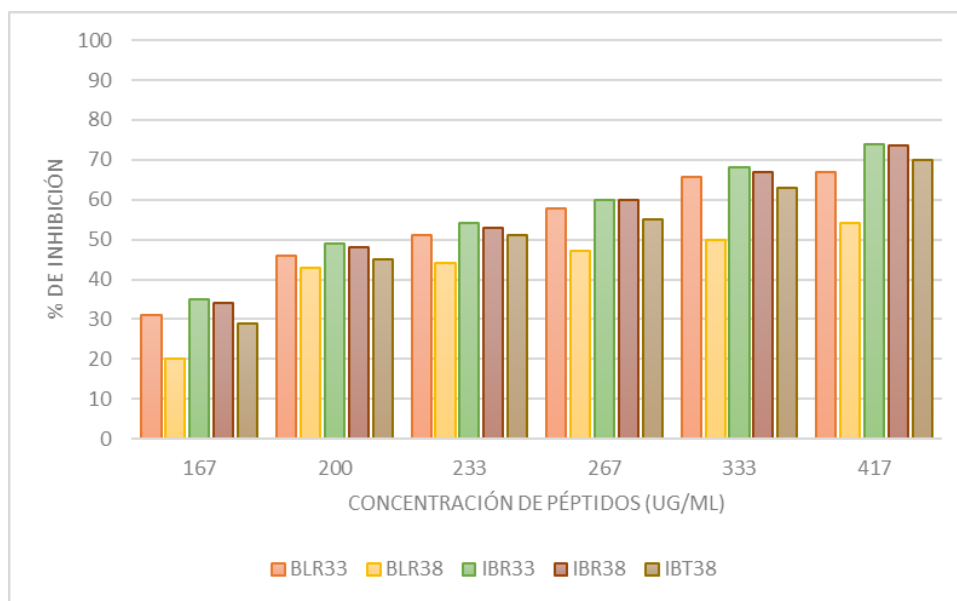


Figura IV.5. Evolución de la actividad IECA en función de la concentración de péptidos en los jamones con merma de curación 33% y 38%.

Tabla IV.21. Efecto de la raza y el procesado en la actividad IECA en jamones con una merma de curación del 38%.

Formulación	Tipo de jamón curado			p-valor	
	IBT ₃₈	IBR ₃₈	BLR ₃₈	Raza	Procesado
IECA (IC ₅₀)	0.249±0.018 _b	0.220±0.012 _b	0.335±0.017 _a	0.025	0.387

Los resultados se expresan en mg/mL como la media ± SEM. SEM: error estándar de la media.
 p-valor raza: ANOVA de una vía IBR vs BLR; p-valor procesado: ANOVA de una vía IBT vs IBR (p-valor significativo en $p \leq 0.05$).

Tabla IV.22. Efecto de la raza en la actividad IECA de los jamones con una merma de curación del 33%.

Formulación	Tipo de jamón curado		p-valor
	IBR ₃₃	BLR ₃₃	Raza
IECA (IC ₅₀)	0.215±0.043 _a	0.230±0.014 _a	0,7550

Los resultados se expresan en mg/mL como la media ± SEM. SEM: error estándar de la media.
 p-valor raza: ANOVA de una vía IBR vs BLR (p-valor significativo en $p \leq 0.05$).

Todas las muestras presentan actividad IECA y ésta aumentó al incrementarse la concentración de péptidos. Esto podría ser debido a la presencia de pequeños péptidos de un tamaño menor a 3 kDa (Li, Wu, Wan, et al., 2022; Mejri et al., 2017; Mora, Escudero, Toldrá et al., 2015).

La muestra que mayor actividad IECA (IC_{50}) presentó fue IBR₃₃, lo que conferiría a este jamón mayor potencial para controlar enfermedades asociadas al sistema cardiovascular (Sentandreu & Toldra, 2007). La IC_{50} en el producto final, fue menor (mayor actividad) en los jamones ibéricos que en los blancos (Tabla IV.21), probablemente debido al mayor tiempo de curación empleado en los jamones ibéricos, coincidiendo con lo observado en otros estudios (Mora, Escudero, Arihara et al., 2015). Sin embargo, cuando la merma de curación es del 33% no se observaron diferencias significativas entre razas (Tabla IV.22).

El método de procesado no influyó significativamente ($p \geq 0.05$) en la actividad IECA en los jamones ibéricos, a pesar de que ésta fue ligeramente mayor en los jamones reducidos en sal (IBR₃₃) (Tabla IV.21). Otros autores tampoco encontraron diferencias significativas en la concentración de péptidos con actividad antihipertensiva en el jamón blanco a pesar de la reducción de sal (Heres, Yokoyama, et al., 2021).

En la Tabla IV.23 se presentan los resultados del efecto del tiempo de procesado en la producción de actividad IECA. En los BLR los jamones con una merma del 33% tienen mayor actividad antihipertensiva que con una merma del 38% ($p \leq 0.05$). Sin embargo, en los jamones ibéricos el tiempo de procesado no implica que haya una mayor actividad IECA. En los jamones serranos y Panxian se ha observado que esta actividad aumenta significativamente en la última fase de curación (Escudero et al., 2014; Li, Wu, Wan, et al., 2022). Otros autores también han observado este comportamiento para el dipéptido AA que incrementa su actividad en un 40% desde los 6 meses hasta los 12 meses de curación del jamón (Heres, Yokoyama, et al., 2021).

Tabla IV.23. Efecto de la merma en la actividad IECA de los jamones ibéricos y blancos reducidos en sal (IBR y BLR).

Formulación	Tipo de jamón curado		
	IBR	BLR	
IECA (IC ₅₀)	Merma 33%	0.215±0.043 _a	0.230±0.014 _a
	Merma 38%	0.220±0.012 _a	0.335±0.017 _b
p-valor	Merma	0.486	0.001

Los resultados se expresan en mg/mL como la media ± SEM. SEM: error estándar de la media.
p-valor raza: ANOVA de una vía merma 38% vs merma 33% (p-valor significativa en $p \leq 0.05$).

El hecho de que se haya detectado actividad antihipertensiva (IECA) en los jamones estudiados es muy relevante ya que se podrían contrarrestar los efectos nocivos del sodio en el organismo (Escudero, et al., 2013a).

IV.7. ESTUDIO 7: Secuenciación de péptidos bioactivos.

Los péptidos presentes en las cinco muestras estudiadas (IBR₃₈, IBR₃₃, BLR₃₈, BLR₃₃ e IBT₃₈) fueron secuenciados mediante análisis LC-MS/MS. En la Tabla IV.24 se indica el número de péptidos secuenciados por muestra. El jamón donde se secuenciaron mayor cantidad de péptidos fue BLR₃₈. El jamón IBR₃₃ resultó ser la muestra con menor número de péptidos secuenciados. Finalmente, el jamón IBR₃₈ presentó mayor cantidad de péptidos que el jamón IBT₃₈, lo que coincide con los valores obtenidos de NPN (Tabla IV.6).

Tabla IV.24. Número de péptidos secuenciados por muestra.

Muestra	Nº de Péptidos secuenciados
IBR ₃₈	979
IBR ₃₃	602
BLR ₃₈	1053
BLR ₃₃	780
IBT ₃₈	904

En la Figura IV.6 se muestra el rango de tamaño de los biopéptidos identificados en este proyecto en comparación con la base de datos BIOPEP. La

imagen muestra que no se encontraron ninguno de los péptidos ya activados de la base de datos entre los péptidos que se obtuvieron en el estudio proteómico, que fueron de un tamaño mayor. Por tanto, no se ha demostrado su bioactividad en estudios previos. Sería interesante, contar con otras técnicas que puedan identificar secuencias de menor tamaño, como las utilizadas por otros autores para la detección de dipéptidos (Heres et al., 2022; Heres, Mora, et al., 2021; Mora et al., 2020).

En otros estudios, si se encontraron secuencias idénticas en el jamón curado. Así por ejemplo, las secuencias KAAAAP, AAPLAP, KPVAAP, con origen en diferentes tipos de la proteína miosina, se identificaron como los péptidos con mayor actividad IECA en el jamón DOP Teruel (Escudero et al., 2014), estando también presentes en el jamón serrano (Montoro-Garcia et al., 2017). Se examinó su estabilidad durante el procesado y tras la digestión *in vitro*, comprobando que conservaban la bioactividad. En estudios *in vivo*, el péptido AAATP resultó ser el que mayor actividad antihipertensiva tuvo, llegando a disminuir la presión arterial sistólica con un efecto a corto plazo (Escudero, et al., 2013a). En este mismo estudio se identificaron otras secuencias con actividad antihipertensiva, como ASGPINFT y DVITGA (ambas derivadas, igualmente, de la proteína miosina). En otro estudio posterior, se observó que AAATP, junto con el dipéptido KA, presentaba, además, actividad inhibidora de la DPP-IV que contribuiría a mejorar la concentración de glucosa en sangre (Montoro-Garcia et al., 2017). El poder antioxidante ha sido otra de las bioactividades estudiadas en el jamón serrano tradicional (Elizabeth Escudero et al., 2013). Se ha identificado el péptido SAGNPN como el que mayor capacidad tiene para donar electrones, neutralizando la capacidad oxidante, incluso por encima de los péptidos sintetizados. En este mismo estudio, el péptido GLAGA resultó ser el que mayor poder reductor tuvo. La secuencias SNAAC y AEEEEYDDL, identificadas en jamón curado, presentaban una alta actividad antioxidante (Mora et al., 2014).

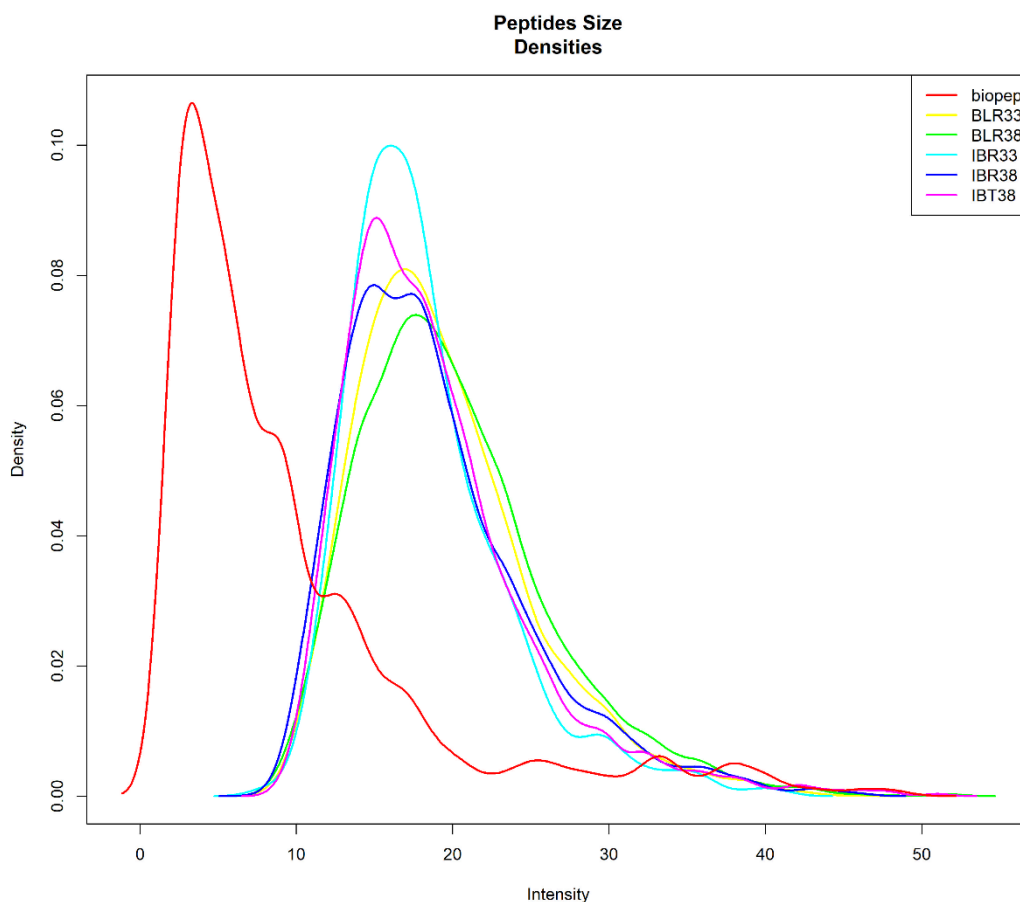


Figura IV.6 Rango de tamaño de los péptidos identificados en las diferentes muestras estudiadas en contraste con la base de datos BIOPEP.

En el jamón ibérico se han identificado numerosos péptidos bioactivos con un alto poder antihipertensivo, siendo mayor que el del jamón serrano. Las secuencias que más se repiten, y que coinciden con la base de datos BIOPEP, son PPK, PAP, AAP (Mora, Escudero, Arihara et al., 2015). Por otro lado, se han secuenciado dipéptidos como EA, con actividad IECA, o PP y VE, que presentaron actividad IECA e inhibidora de DPP-IV (Mora et al., 2020).

Recientemente, en jamones con un contenido reducido en sal se han identificado dipéptidos que presentan actividad antiinflamatoria y protectora cardiovascular (PA, GA, VG, EE, ES, DA, DG), además de contribuir al aroma y

sabor del producto (Heres et al., 2022). Sin embargo, no se han encontrado estudios en jamones ibéricos o blancos deshuesados en fresco y reducidos en sal.

IV.7.1. Estudio de las secuencias peptídicas con actividad putativa.

Se ha realizado una búsqueda de precursores peptídicos que pueden contener biopéptidos en su secuencia y que de forma teórica pudieran activarse tras la digestión. Esta técnica es útil para aquellas secuencias que son muy pequeñas (menores de 7 AA) y con el procedimiento de proteómica no es posible detectarlos.

En la Figura IV.7 se representa el gráfico de intersecciones de los precursores peptídicos. El histograma horizontal, situado en la parte izquierda de la figura, refleja la cantidad de precursores peptídicos identificados en cada muestra. En el diagrama de barras situado en la parte superior del gráfico, se indica aquellas secuencias que coinciden entre las muestras que, a su vez, se representan como los puntos y líneas de intersección. Hacia la izquierda quedan ordenadas aquellas muestras que tienen más individuos únicos, es decir, que el biopéptido con actividad potencial sólo se ha encontrado en la muestra en cuestión. Se representan con un punto. Sin embargo, aquellas secuencias que se han encontrado en más de una muestra se representan con una línea de unión entre los puntos, por tanto, hay, por ejemplo, 243 secuencias que se encontrarían en todas las muestras.

Las muestras que serían más ricas en precursores peptídicos serían del jamón BLR₃₃ (siendo también ésta la que ha presentado un mayor número de secuencias únicas) y del jamón BLR₃₈, siendo además las que mayor índice de proteólisis tuvieron según los resultados de este estudio. Estos datos confirman los ya publicados en la bibliografía (Martín et al., 1998). Los jamones ibéricos serían más pobres en precursores peptídicos, lo que podría ser debido a que las secuencias generadas tengan una menor bioactividad o a su menor actividad proteolítica en comparación a los jamones de cerdo blanco (Rosell & Toldra, 1998).

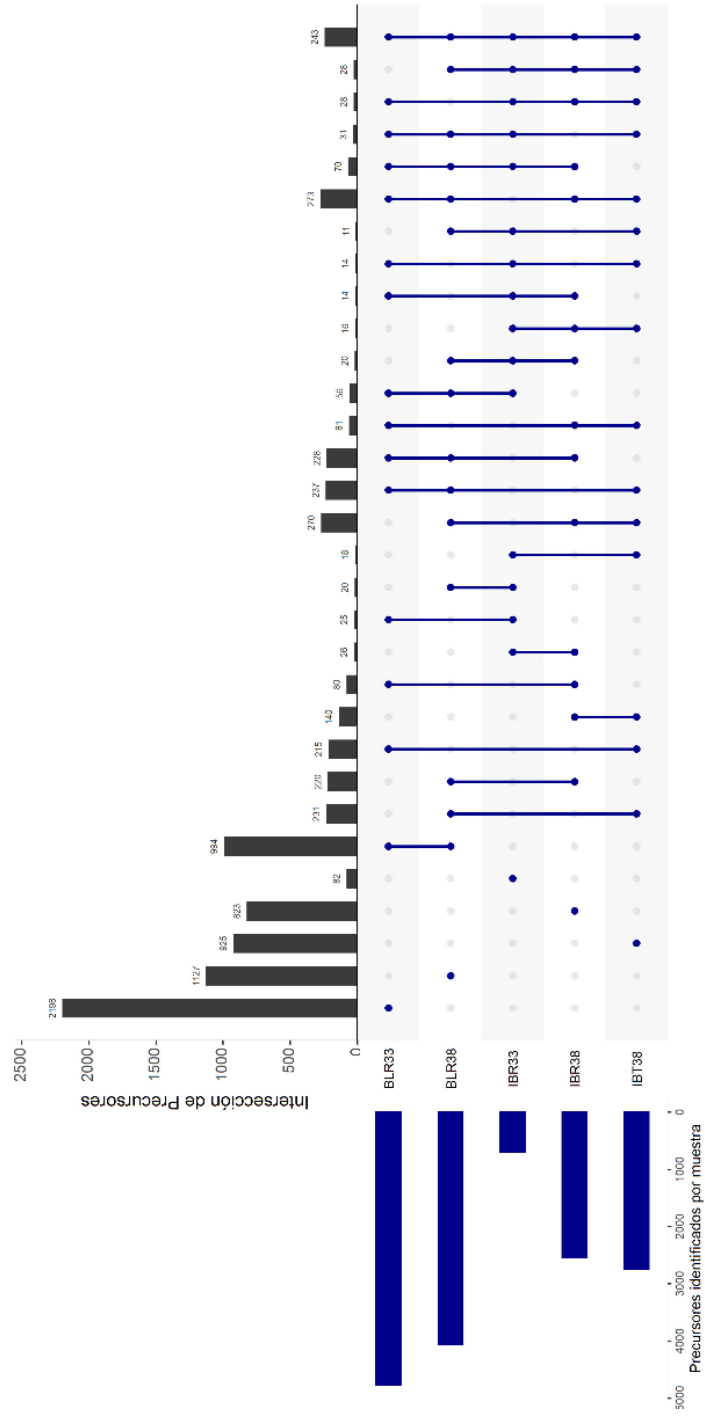


Figura IV.7. Intersección de los precursores peptídicos identificados en las diferentes muestras.

Con la intención de contextualizar qué tipo de bioactividad tenían las muestras, se realizó un Zscored para dibujar la variación existente entre las muestras con respecto a la media de las diferentes actividades (heatmap). Los resultados se muestran en la (Figura IV.8) teniendo en cuenta que, a mayor intensidad de color rojo, la actividad en cuestión estará sobrerrepresentada con respecto a la media de las 5 muestras.

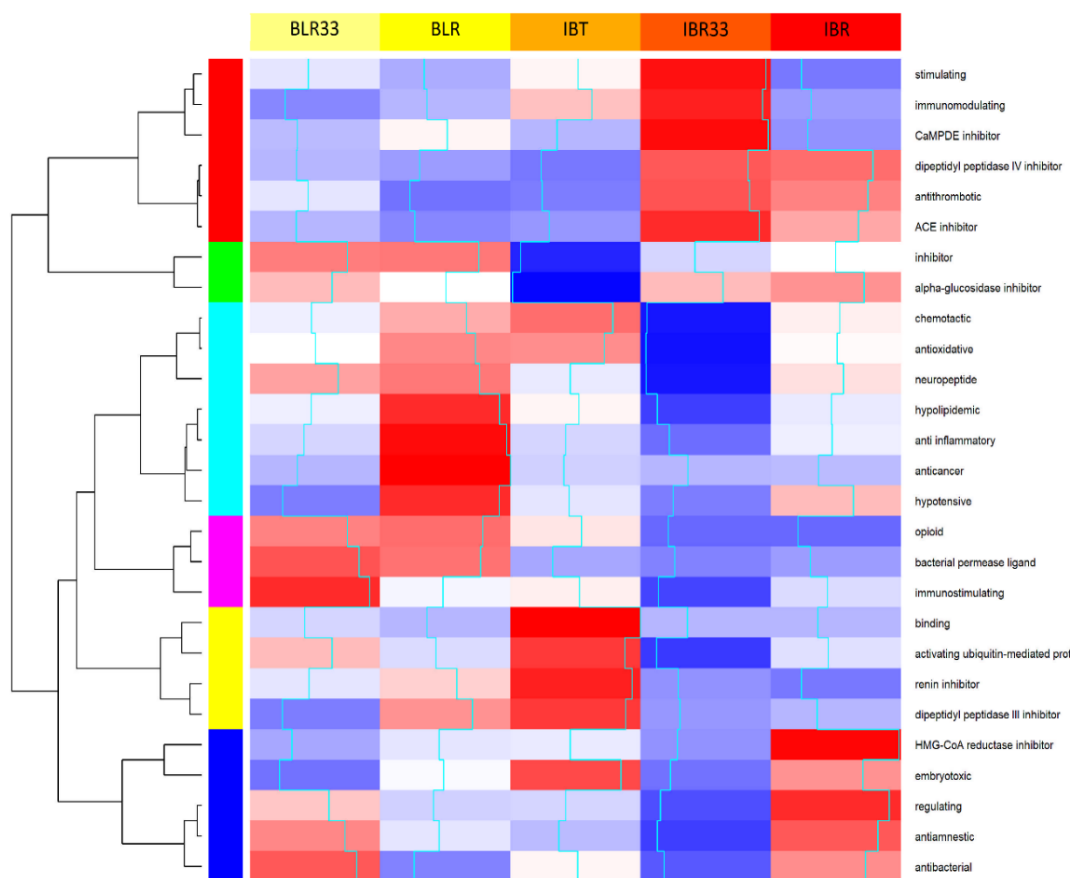


Figura IV.8. Heatmap y dendrograma de bioactividades de las diferentes muestras de jamón estudiadas. Cuantificación de la bioactividad con respecto a la media. Se define la relación de agrupación entre los grupos de actividades.

Las bioactividades se agrupan en función de la intensidad de aparición en cada muestra. Además, la sucesión de filas y columnas está reorganizada para

evitar la intersección de las líneas del dendrograma. Las líneas de color azulado representan el valor del coeficiente. De forma individual para una mejor comprensión, se ha representado en qué muestra destaca cada grupo de actividades para cada uno de los grupos o cluster (Figura IV.9), correspondiendo cada uno a un grupo de bioactividades.

En BLR₃₃ la mayor actividad que se presenta es la inmunoestimuladora. No se han encontrado estudios sobre la presentación de esta bioactividad en jamón curado.

BLR₃₈ son los que mayor actividad antioxidante presentaron. Estos resultados coinciden con la actividad observada anteriormente *in vitro* mediante el DPPH (Tabla IV.18, Estudio 6). Otras bioactividades que destacan en esta muestra son las de activación de neuropéptidos, hipolipémica, antiinflamatoria, anticancerosa e hipotensora. La actividad antioxidante e hipotensora están bien estudiadas en los jamones de cerdo blanco. Existen diferentes estudios que confirman la aparición de estas bioactividades en el jamón (Escudero et al., 2012). Recientemente, en los jamones de Xuanwei se han identificado péptidos con actividad antiinflamatoria. Se ha observado una relajación de los síntomas de la enfermedad inflamatoria intestinal en ratones, llegándose a proponer que estos péptidos se podrían utilizar como un fármaco funcional en pacientes que padecieran esta enfermedad (Xing et al., 2022).

En los jamones IBR₃₃ las actividades que predominan son la estimuladora, inmunomoduladora, inhibidor CaMPDE, inhibidor de la DPP-IV, antitrombótica e IECA, coincidiendo con el Estudio 6 (Tabla IV.22) donde IBR₃₃ fue la muestra con mayor actividad antihipertensiva (IECA). Resultados similares se obtuvieron en otro estudio en el que el jamón ibérico presentó una mayor actividad IECA comparado con jamones serranos tradicionales (Mora, Escudero, Arihara et al., 2015). La actividad antihipertensiva está bien estudiada en el jamón (Montoro-García et al., 2017; Mora, Escudero, Arihara et al., 2015; Mora et al., 2018). Existen estudios que afirmarían que el jamón serrano sería una buena fuente de péptidos inhibidores de la DPP-IV y que estos péptidos se podrían utilizar como complemento en el tratamiento de la diabetes tipo 2 (Gallego et al., 2014).

Los jamones IBR₃₈ tienen actividad inhibidora de HMG-CoA reductasa, reguladora e inmunológica. Los inhibidores de la HMG-CoA reductasa juegan un papel muy importante en el control de la hipercolesterolemia e, indirectamente, en el control de la aparición de enfermedades cardiovasculares. En este sentido, otros estudios han hallado en el jamón curado dipéptidos como DA, DD, EE, ES y LL que han sido identificados como los principales inhibidores de esta coenzima (Heres, Mora, et al., 2021).

Por último, los jamones IBT₃₈ destacan por su actividad vinculante, activadora de la proteína ubiquitina mediadora, inhibidora de la renina, inhibidora de la dipeptidil peptidasa III o embriotóxica, bioactividades que aún no han sido muy estudiadas.



Figura IV.9. Representación de la bioactividad en cada muestra para cada uno de los grupos (cluster) de actividades.

Debido a que en las muestras se encuentran fragmentos de secuencias bioactivas, en la Figura IV.10 se representa el gráfico de tela de araña con la cuantificación normalizada de los precursores peptídicos de los cinco jamones. Esta distribución permite diferenciar entre ellos según la actividad representada. Se refleja la bioactividad potencial de los péptidos identificados en cada muestra utilizando la misma escala y amplitud del eje, lo que permite comparar entre ellas. El jamón curado se considera una buena fuente de diferentes péptidos bioactivos los cuales ejercen actividades funcionales tan importantes como la inhibidora de la enzima convertidora de la angiotensina, hipoglucémica o antiinflamatoria (Toldra et al., 2020b).

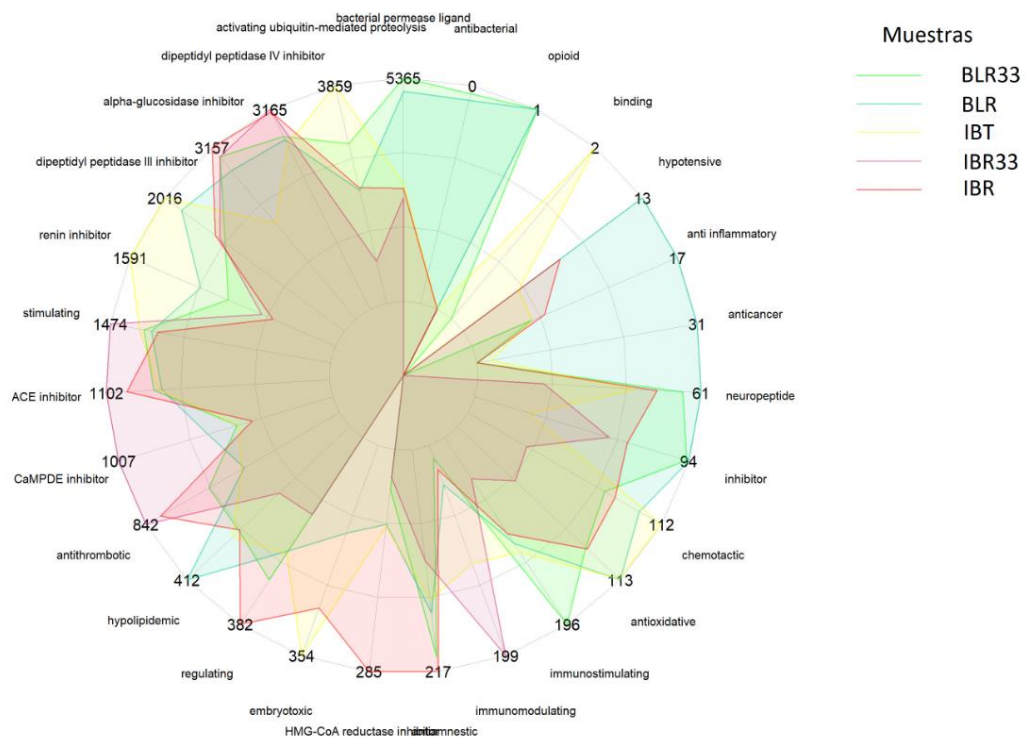


Figura IV.10. Cuantificación normalizada de precursores peptídicos ($\times 103$) en las diferentes muestras de jamón curado.

Tras este estudio *in vitro* se hace necesario continuar la investigación ya que diversos autores destacan la importancia de evaluar el efecto de estos precursores peptídicos, sus interacciones y su biodisponibilidad (Mora et al., 2018), especialmente si lo que se pretende es utilizar estos productos como alimentos funcionales. Además, sería necesario profundizar el estudio en las nuevas bioactividades destacadas de las que no se han encontrado estudios en jamón curado.

IV.7.2. Análisis de bioactividad en función de la composición aminoacídica.

El estudio de la composición de AA para realizar el análisis de la bioactividad de las muestras se llevó a cabo en jamones con 38% de curación por ser aquellos que mejores características organolépticas tenían y, por tanto, se destinarían a consumidor final (Tabla IV.15-Tabla IV.17).

En los estudios de bioactividad es importante tener en cuenta las propiedades estructurales de las secuencias (Gallego et al., 2020). Así, determinadas características como el tamaño, la hidrofobicidad o la composición podrán influir en la estabilidad o la biodisponibilidad de los péptidos. Se seleccionaron alrededor de 20 secuencias, entre las identificadas en cada jamón, con un tamaño menor a 1,5 kDa y con un máximo de 12 aminoácidos en su cadena. El tiempo de procesado hace que el tamaño de los péptidos disminuya y, a su vez, aumenta la actividad antioxidante de los mismos (Li, Xu, Zhou, et al., 2022), ya que las secuencias cortas de AA tienen mayor probabilidad de ser bioactivas (Heres et al., 2022; Huang et al., 2017). Además, más del 50% de los aminoácidos de la cadena deberían ser hidrófobos, puesto que se ha demostrado que contribuye a la actividad antioxidante (Wattanasiritham et al., 2016). La presencia de los aminoácidos A, D, E, G, L, P, V confieren a la secuencia peptídica actividad antioxidante y antihipertensiva (Saiga et al., 2003; Shazly et al., 2017; Wattanasiritham et al., 2016) y esta actividad se relaciona directamente con el peso molecular de los péptidos (Tang et al., 2010). Por otro lado, la presencia de H, Y, W, F, M, C podría inhibir radicales libres por transferencia directa de electrones (Huang et al., 2017).

Las secuencias de aminoácidos de los péptidos que fueron identificados a partir de los jamones ibéricos reducidos en sal (IBR) se muestran en la Tabla IV.25.

Tabla IV.25. Identificación de las secuencias de aminoácidos de los péptidos presentes en el jamón ibérico reducido en sal (IBR) mediante LC-MS/MS.

Nº	Secuencia peptídica	Masa Experimental	Proteína de referencia	Acc
1	CLFVCR	750.37	Ubiquitin associated and SH3 domain containing B	F1S9R5
2	DLDISAPQ	858.43	Calsequestrin	F1RJW7
3	AFPPDVGGN	873.41	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
4	LIGIEVPH	877.51	Uncharacterized protein	F1RK48
5	ALQPALKF	887.53	Superoxide dismutase	A0A287A4Z2
6	DGADFAKW	909.41	Fructose-biphosphate aldolase	A0A287A1V5
7	LDLAEKD	916.5	Alpha-amylase	I3LSA5/F1S574/F1S573
8	AFGPGLEGGL	917.47	Filamin C	F1SMN5
9	AAFPPDVGGN	944.45	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
10	IDLIEKPM	958.53	Myosin 7	A0A286ZPQ9
11	MADTFLEH	963.42	Pyruvate Kinase	A0A287B8G0
12	FDKIEDMA	968.44	Myosin 2-4-7	F1SS64/Q9TV62/A0A2867PQ9
13	LGIDVWEH	968.48	Superoxide dismutase	A0A287A4Z2
14	WNDEIAPQ	972.44	Phosphoglycerate mutase	B5KJG2
15	AFPPDVGGNV	972.48	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
16	GFNPPDLDI	987.48	Calcium transporting ATPase	A0A287APK5
17	AGNPDLVLPV	994.56	Beta-enolase	A0A287AZR0
18	AAFPPDVGGNV	1043.52	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
19	AFPPDVGGNVD	1087.51	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
20	AAFPPDVGGNVD	1158.54	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2

En general, la actividad antioxidante está muy presente entre las secuencias seleccionadas. Algunas de ellas tienen más del 50% de los péptidos que aportan actividad antioxidante. Destacan los péptidos LDLALEKD, AAFPPDVGGN, AGNPDLVLPV y AFGPGLEGGL por tener más de un 80% de AA que favorecerían la actividad antioxidante, siendo el último el que más actividad antioxidante tendría (90% de sus AA).

Las secuencias AAFPPDVGGN y AFPPDVGGN ya fueron identificadas como presentes en la carne de cerdo (Escudero et al., 2010) y se han encontrado 6 que las contienen (AFPPDVGGN, AAFPPDVGGN, AFPPDVGGNV, AAFPPDVGGNV, AFPPDVGGNVD y AAFPPDVGGNVD). De ellas podrían derivar los péptidos FPPDVGGN y FPPDVGGNVD con origen en la proteína miosina previamente identificados (Mora et al., 2020). De la acción de la enzima dipeptidil peptidasa (Sentandreu & Toldra, 2001) podría liberarse de algunas de ellas el dipéptido VD que tendría actividad inhibidora de la DPP-IV y por lo tanto, actividad antidiabética (Gallego et al., 2014; Lan et al., 2015).

La secuencia más destacada es CLFVCR por presentar una mayor cantidad de AA hidrofóbicos (83% de ellos), 67% de AA que conferirían actividad IECA y 50% de AA que eliminarían radicales libres. La actividad IECA estaría más presente en aquellas secuencias que contengan residuos de AA hidrofóbicos en alguna de las tres posiciones del C-terminal (Tejada et al., 2022). Para esta muestra, la secuencia AGNPDLVLPV presenta tres AA hidrofóbicos en el C-terminal. El dipéptido WK podría extraerse de péptidos más largos con origen en la β -enolasa, como DGADFAKW (Tabla IV.25). Este dipéptido ha sido identificado como inhibidor de la DPP-IV (Bella et al., 1982; Nongonierma et al., 2014). Algo similar ocurre con las secuencias LIGIEVPH, IDLIEKPM, FDKIEDMA, WNDEIAPQ y DLDISAPQ de donde podrían derivar los dipéptidos IE y SI de la proteína α -enolasa. Han sido descritos como péptidos inhibidores de la ECA y de la DPP-IV, respectivamente (Lan et al., 2015; van Platerink et al., 2008). Estos dipéptidos podrían ser responsables de la alta actividad antihipertensiva observada en este estudio para la muestra IBR₃₈ (Figura IV.8).

Recientemente, en jamones curados reducidos en sal han sido identificados algunos dipéptidos relacionados con la actividad antiinflamatoria y que podrían conferir protección cardiovascular (Heres et al., 2022). Estos dipéptidos son PA,

GA, DA o DG que se podrían derivar de las secuencias encontradas en IBR₃₈: ALQPALKE, WNDEIAPQ, MADTFLEH, DLDISAPQ, DGADFAKW, MADTFLEH y AGNPDLVLPV, siendo GA el dipéptido mayormente identificado en el estudio.

En la Tabla IV.26 se muestran las secuencias de péptidos destacadas que se detectaron en las muestras del jamón ibérico curado de forma tradicional (IBT).

En dichas muestras seis secuencias de las seleccionadas presentaron más del 80% de los AA que podrían aportar actividad antioxidante al producto (AFPPDVGGNV, AAFPPDVGGN, DVVLPGGNL, VAVGDKVPAD, DIAVDGEPLG AGNPDLVLPV y AFGPGLEGGL). Ésta última frecuencia, al igual que en el IBR₃₈, sería una de las que más actividad antioxidante tendría. Por otro lado, la secuencia que destaca por tener mayor cantidad de péptidos hidrófobos es ILPGPAPW. Es importante destacar que este péptido está compuesto por la secuencia Pro-Ala-Pro, una de las secuencias más repetidas entre los péptidos bioactivos descritos en la bibliografía (Mora, Escudero, Arihara et al., 2015). Conferiría, también, una buena actividad antioxidante a la muestra (Wattanasiritham et al., 2016). Estas secuencias podrían contribuir a la bioactividad descrita para el jamón IBT₃₈ (Figura IV.8).

Cuatro secuencias son las que presentan tres AA hidrofóbicos en el C-Terminal, y por tanto, mayor probabilidad de desarrollar actividad IECA (ILPGPAPW, VMGAPGAPM, GDLGIEIPA y AGNPDLVLPV) (Tejada et al., 2022). La secuencia AGNPDLVLPV coincidiría con la encontrada en IBR₃₈.

En las secuencias GDLGIEIPA e IELIEKPM podemos encontrar el dipéptido IE relacionado con la bioactividad IECA (Lan et al., 2015).

Las mismas 6 secuencias que se identificaron en IBR₃₈ se han encontrado en IBT₃₈ (AAFPPDVGGNV, AAFPPDVGGN, AFPPDVGGNVD, AAFPPDVGGNVD, AFPPDVGGN y AFPPDVGGNV) ya identificadas en carne de cerdo y que podrían tener actividad inhibidora de la DPP-IV derivada del dipéptido DV (Mora et al., 2020).

Tabla IV.26. Identificación de las secuencias de aminoácidos de los péptidos presentes en el jamón ibérico tradicional (IBT) mediante LC-MS/MS.

Nº	Secuencia peptídica	Masa Experimental	Proteína de referencia	Acc
1	VMGAPGAPM	830.39	Uncharacterized Protein	F1RVL5
2	ILPGPAPW	850.48	PDZ and LIM domain protein 3	Q6QGC0
3	DIDLAPQ	858.42	Calsequestrin	F1RJW7
4	GDLGIEIPA	884.47	Pyruvate kinase	A0A287B8G0
5	IGIGPGGVIGA	910.54	Uncharacterized protein	A0A287AXV0
6	AFGPGLEGGL	917.47	Filamin C	F1SMN5
7	TVPPAVPGIT	951.55	Fructose-biphosphate aldolase	A0A287A1V5
8	VAVGDKVPAD	970.52	Calcium-transporting ATPase	A0A287APK5
9	IELIEKPM	972.54	Myosin 2-4	F1SS65/Q9TV62
10	DVVVLPGGNL	982.56	DJ-1 Protein	Q0R678
11	HMWPGDIK	983.48	Alpha-amylase	I3LSA5/F1S574
12	FNVIQPGPI	984.55	2,4-dienoyl-CoA reductase 1	D6QST6
13	DIAVDGEPLG	985.48	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	P62936
14	AGNPDLVLPV	994.56	Beta-enolase	A0A287AZR0
15	RIPADVDPL	995.55	Alpha-crystallin B chain	A0A287ATJ4
16	NGAHIPGSPF	996.49	Filamin C	F1SMN5
17	AAFPPDVGGNV	1043.52	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
18	AAFPPDVGGN	944.45	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
19	AFPPDVGGNVD	1087.51	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
20	AAFPPDVGGNVD	1158.54	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
21	AFPPDVGGN	873.41	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
22	AFPPDVGGNV	972.48	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2

Del estudio de comparación entre jamones curados tradicionales y reducidos en sal se deriva que dipéptidos como DA, PA y VG se presentarían en mayor

proporción en los primeros (Heres et al., 2022). Las dos últimas secuencias podrían derivarse de los péptidos encontrados en la muestra IBT₃₈ y podrían aportar actividad antiinflamatoria y antihipertensiva. Otras secuencias que podríamos encontrar, que fueron previamente identificadas en este estudio, son GA (actividad IECA e inhibidora de la DPP-IV) y DG (actividad IECA).

Las secuencias de AA seleccionadas de los jamones blancos reducidos en sal (BLR) se muestran en la Tabla IV.27.

Tabla IV.27. Identificación de las secuencias de aminoácidos de los péptidos presentes en el jamón blanco reducido en sal (BLR) mediante LC-MS/MS. (Masa experimental expresada en Da).

Nº	Secuencia peptídica	Masa Experimental	Proteína de referencia	Acc
1	VMGAPGAPM	829.39	Uncharacterized protein	F1RVL5
2	AKLPADTE	843.44	Triosephosphate isomerase	A0A286ZRV2
3	SGMNVARL	846.43	Pyruvate Kinase	A0A287B8G0
4	ILPGPAPW	849.48	PDZ and LIM domain protein C	Q6QGC0
5	AFPPDVGGN	873.41	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
6	LIGIEVPH	876.51	Uncharacterized Protein	F1RK48
7	GDLGIEIPA	883.47	Pyruvate kinase	A0A287B860
8	ALQPALKF	886.53	Superoxide dismutase	A0A287A4Z2
9	IKIAPPE	879.55	Actin Alpha skeletal muscle	P68137
10	LYKVAVGF	895.52	Alpha-Amylase.	I3LSA5
11	DLAEDAPW	915.40	Filamin C	F1SMN5
12	AAFPPDVGGN	944.45	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
13	LSVEAPLPK	952.57	Heat shock protein beta-1	A0A2C9F366
14	ISAPSADAPM	958.45	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	A0A287BG23
15	IELIEKPM	971.54	Myosin-2.	F1SS65
16	AFPPDVGGNV	972.48	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
17	AEVIALPVE	981.55	Cut a divalent cation tolerance homolog	F1RZR6
18	LVIIEGDLE	999.56	Tropomyosin alpha 3-chain	A0A287AID2
19	AAFPPDVGGNV	1043.52	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
20	GADPEDVITGA	1044.48	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
21	AFPPDVGGNVD	1087.51	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
22	AAFPPDVGGNVD	1158.54	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
23	LKGADPEDVITGA	1285.66	Myosin regulatory light chain 2	Q5XLD2
24	FKAEEEPDLS	1327.61	Creatine Kinase M-type	Q5XLD3

Las secuencias que destacan por presentar más del 80% de AA que conferirían actividad antioxidante son DLAEDAPW y AEVIALPVE. Ésta última secuencia también se presenta en el jamón ibérico reducido en sal (IBR₃₈) como la que más actividad antioxidante tendría. La secuencia que destaca por presentar mayor cantidad de AA hidrofóbicos es ILPGPAPW, la misma que IBT₃₈, y que presenta una de las secuencias más repetidas entre los péptidos bioactivos (PAP) (Mora, Escudero, Arihara et al., 2015). Además, esta secuencia presenta un 75% de AA que conferirían actividad antioxidante, tres AA hidrófobos en el C-terminal que conferirían actividad IECA y 13% de AA que podrían inhibir radicales libres. Por otro lado, en las muestras de BLR₃₈ se han encontrado seis secuencias peptídicas con tres AA hidrofóbicos en el C-Terminal (ILPGPAPW, AVIGPSLPL, VMGAPGAPM, ISAPSADAPM, DLAEDAPW y GDLGIEIPA), que conferirían actividad IECA. Sin embargo, en IBR₃₈, de las secuencias seleccionadas, ninguna presentó más de dos AA hidrofóbicos en el C-Terminal. Las secuencias ILPGPAPW, VMGAPGAPM, GDLGIEIPA coinciden con IBT₃₈. Además, las secuencias LKGADPEDVITGA y GADPEDVITGA contendrían en su cadena el péptido bioactivo DVITGA relacionado con una alta actividad IECA debido a la presencia del AA alanina en el C-terminal (Escudero, et al., 2013a; Miguel et al., 2004). A pesar de ello, el jamón BLR₃₈ fue el que menor actividad antihipertensiva manifestó (Figura IV.8), por lo que sería necesario estudiar si estos péptidos confieren actividad IECA y en qué cantidad se presentan. Existen, además, secuencias de las que podría derivar el dipéptido IE ya descrito como precursor de esta bioactividad (Lan et al., 2015).

La secuencia identificada en BLR₃₈, FKAEEEEYPDLS, una vez digerida, podría resultar en el péptido AEEEEYDDL, derivado de la proteína creatina quinasa e identificado como un potente antioxidante (Mora et al., 2014). Utilizando el monitoreo de reacciones múltiples (MRM), se cuantificó a una concentración de 0,148 fg/g en jamón curado (Gallego et al., 2018). Este hecho podría explicar por qué los jamones BLR₃₈ son los que presentaron mayor actividad antioxidante (Figura IV.8) y con el mayor índice de proteólisis obtenido en los jamones blancos (Tabla IV.6).

Finalmente, en los jamones BLR₃₈ se han identificado las mismas 6 secuencias descritas en IBR₃₈ e IBT₃₈ (AAFPPDVGGNV, AAFPPDVGGN, AFPPDVGGNVD,

AAFPPDVGGNVD, AFPPDVGGN y AFPPDVGGNV), lo que explicaría por qué en la última columna del eje horizontal de la Figura IV.7 existen precursores identificados en todas las muestras, incluso algunos que solo se detectan en los jamones con 38% de merma de curación. Sin embargo, se explicaría la diferencia de la actividad proteolítica entre las diferentes razas e influida por el tipo de procesado, ya que los jamones ibéricos reducidos en sal (IBR₃₈ e IBR₃₃) fueron los que mayor actividad inhibidora de la DPP-IV presentaron, estando por debajo los jamones blancos (BLR₃₈ e BLR₃₃) y finalmente el ibérico tradicional (IBT₃₈).

En el estudio reciente del jamón blanco reducido en sal se identifican dipéptidos hidrófobos PA (relacionado con el sabor amargo y con actividad IECA y antiinflamatoria) y VG (relacionado con el sabor amargo y umami y con actividad IECA) que podrían derivarse de las secuencias de esta muestra (Heres et al., 2022).

Las diferentes secuencias únicas y comunes que podrían actuar como precursores peptídicos e identificadas en las muestras coincidirían con los resultados representados en la Figura IV.7. Estos precursores serían los responsables de las bioactividades encontradas en los diferentes tipos de jamón. Los resultados muestran que en el jamón IBR₃₈ se han encontrado precursores que podrían ser responsables de su alta capacidad antihipertensiva, observando que el cambio de procesado hace variar las secuencias identificadas en ambas muestras (IBR₃₈ e IBT₃₈). Adicionalmente, se han encontrado péptidos ya referenciados en bibliografía en el jamón BLR₃₈, entre los que se encuentra una secuencia que da lugar a un potente péptido antioxidante (AEEEYPDL) que explicaría la mayor bioactividad de este jamón en concreto. Sin embargo, ninguno de estos péptidos coincidentes se encuentra en los jamones de raza ibérica. Tras el estudio de estas secuencias precursoras sería necesario realizar pruebas de estimulación gastrointestinal para comprobar la integridad de las secuencias. Existen estudios donde se evalúa la correcta estabilidad de un péptido pero tras la estimulación gastrointestinal su actividad se ve significativamente mermada (Gallego et al., 2018).

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES

1. El deshuesado de los jamones en fresco antes de comenzar el proceso de curación y la reducción del tiempo de salado, permite reducir el contenido en sodio en el jamón ibérico en un 30.4% sin afectar a sus características sensoriales y un 27.5% en el jamón blanco. Esto permite la inclusión del reclamo nutricional "reducido en sal" en el etiquetado en comparación con los productos de la misma categoría.
2. La raza influyó en la velocidad de difusión de la sal y otros minerales durante la etapa de salado. El cambio de procesado permitió que el salado de los jamones se desarrollara de forma adecuada.
3. La nueva forma de procesado permitió que la sal difundiera de forma correcta durante la etapa de postsalado evitando problemas de textura en el producto final. Particularmente, fue necesario un periodo de tiempo más largo para alcanzar unos niveles de secado óptimos.
4. La reducción de sal y el proceso de deshuesado en fresco no tienen un efecto negativo sobre la actividad proteolítica del jamón curado, tanto de cerdo ibérico como de cerdo blanco cruzado, y no se observan diferencias significativas en el contenido en AAL. Sí se observa un leve incremento del índice de proteólisis en los jamones curados de cerdo blanco cruzado.
5. La concentración de Na, K, Mg y P se modificó significativamente ($p \leq 0.001$) por el procesado y la raza de cerdo. El nuevo jamón ibérico y blanco reducido en sodio pueden ir acompañados de diferentes Declaraciones Nutricionales: "Reducido en sal", "Alto contenido en Hierro", "Fuente de Potasio", "Alto contenido en Fósforo" y "Alto contenido en Zinc". A estas declaraciones nutricionales le podrían acompañar las respectivas declaraciones de propiedades saludables.

6. A pesar de la reducción de sal, el producto final de jamón ibérico curado es microbiológicamente estable por lo que será seguro el consumo para los consumidores.
7. Los jamones curados reducidos en sal obtienen una aceptación adecuada por parte de los consumidores y unos buenos resultados en las características instrumentales de textura y color. Aunque la modificación del proceso de curado modifica a su vez la textura de los jamones ibéricos reducidos en sal, sus características sensoriales son mejor evaluadas que el homólogo curado de forma tradicional con hueso.
8. Los consumidores prefirieron aquellos jamones ibéricos curados y reducidos en sal que completaron el proceso de curación con un 38% de merma. Lo que confirma que la metodología de curado llevada a cabo en AROMAIS es la correcta para este tipo de producto.
9. El jamón blanco reducido en sal fue el que mayor actividad antioxidante presentó y el jamón ibérico reducido en sal el que mayor actividad antihipertensiva. La actividad antioxidante se vio significativamente influenciada por la raza y por la merma de curación. La actividad antihipertensiva se modificó según la raza en el producto final. La merma de curación la modificó en los jamones de cerdo blanco.
10. En todos los tipos de jamones se secuenciaron precursores peptídicos que podrían dar lugar a secuencias identificadas como bioactivas en la bibliografía, siendo los jamones de cerdo blanco los que mayor cantidad presentaron. El dipéptido DV está presente entre los precursores de todos los jamones y los péptidos bioactivos DVITGA y AEEEYPDL en los precursores de las muestras de jamón blanco reducido.

CAPÍTULO IX: BIBLIOGRAFÍA

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Aaslyng, M. D., Vestergaard, C., & Koch, A. G. (2014). The effect of salt reduction on sensory quality and microbial growth in hotdog sausages, bacon, ham and salami. *Meat Science*, 96(1), 47-55. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.06.004>
- Abellan, A., Maria Cayuela, J., Pino, A., Martinez-Cacha, A., Salazar, E., & Tejada, L. (2012). Free amino acid content of goat's milk cheese made with animal rennet and plant coagulant. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(8), 1657-1664. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5528>
- Abellan, A., Salazar, E., Vazquez, J., Cayuela, J. M., & Tejada, L. (2018). Changes in proteolysis during the dry-cured processing of refrigerated and frozen loin [Article]. *Lwt-Food Science and Technology*, 96, 507-512. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.06.002>
- Adamsen, C. E., Moller, J. K. S., Laursen, K., Olsen, K., & Skibsted, L. H. (2006). Zn-porphyrin formation in cured meat products: Effect of added salt and nitrite. *Meat Science*, 72(4), 672-679. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.09.017>
- AENOR. (1992a). *Análisis sensorial de alimentos. Guía general. Norma española UNE 87008*. (M. A. E. d. N. y. Certificación, Ed.).
- AENOR. (1992b). *Análisis sensorial. Metodología. Prueba triangular. Norma española UNE 87006*. (M. A. E. d. N. y. Certificación., Ed.).
- AENOR. (1993). *Análisis Sensorial. Metodología. Evaluación de productos alimentarios por métodos que usan escalas. Norma española UNE 87020* (M. A. E. d. N. y. Certificación, Ed.).
- AENOR. (2019). *Análisis sensorial. Metodología. Guía general. Norma UNE-ISO 6658:2019*. Asociación Española de Normalización y Certificación.
- AESAN. (2021). *Declaraciones nutricionales y de propiedades saludables*. https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/detalle/declaraciones_nutricionales_saludables.htm.

- Affentranger, P., Gerwig, C., Seewer, G. J. F., Schworer, D., & Kunzi, N. (1996). Growth and carcass characteristics as well as meat and fat quality of three types of pigs under different feeding regimens. *Livestock Production Science*, 45(2-3), 187-196. [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(96\)00011-5](https://doi.org/10.1016/0301-6226(96)00011-5)
- Alarcon-Rojo, A. D., Janacua, H., Rodriguez, J. C., Paniwnyk, L., & Mason, T. J. (2015). Power ultrasound in meat processing. *Meat Science*, 107, 86-93. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.04.015>
- Albarracin, W., Sanchez, I. C., Grau, R., & Barat, J. M. (2011). Salt in food processing; usage and reduction: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(7), 1329-1336. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02492.x>
- Alino, M., Grau, R., Fuentes, A., & Barat, J. M. (2010). Characterisation of pile salting with sodium replaced mixtures of salts in dry-cured loin manufacture. *Journal of Food Engineering*, 97(3), 434-439. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.10.039>
- Alino, M., Grau, R., Toldra, F., Blesa, E., Jesus Pagan, M., & Barat, J. M. (2010). Physicochemical properties and microbiology of dry-cured loins obtained by partial sodium replacement with potassium, calcium and magnesium. *Meat Science*, 85(3), 580-588. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.03.009>
- Alino, M., Grau, R., Toldra, F., Blesa, E., Pagan, M. J., & Barat, J. M. (2009). Influence of sodium replacement on physicochemical properties of dry-cured loin. *Meat Science*, 83(3), 423-430. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.022>
- Amaya, S., & Aguilar, E. (2012). La construcción de la calidad alimentaria: Tradición innovación y poder en las DOP del jamón ibérico en España. *Revista de Economía Agrícola*, 59(2), 39-52.
- Andres, A. I., Cava, R., Martin, D., Ventanas, J., & Ruiz, J. (2005). Lipolysis in dry-cured ham: Influence of salt content and processing conditions. *Food Chemistry*, 90(4), 523-533. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.013>

- Andres, A. I., Cava, R., Ventanas, J., Muriel, E., & Ruiz, J. (2004). Lipid oxidative changes throughout the ripening of dry-cured Iberian hams with different salt contents and processing conditions. *Food Chemistry*, 84(3), 375-381. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(03\)00243-7](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(03)00243-7)
- Andres, A. I., Cava, R., Ventanas, J., Thovar, V., & Ruiz, J. (2004). Sensory characteristics of Iberian ham: Influence of salt content and processing conditions. *Meat Science*, 68(1), 45-51. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2003.08.019>
- ANICE. (2017). Compromiso de reformulación para la reducción de sal y grasa en los derivados cárnicos. <https://www.anice.es/industrias/circulares-ano-2017/circular-1317---propuesta-de-reduccion-de-sal-y-grasa-en-los-derivados-carnicos-20518-228-28252-0-1-in.html>. In: Asociación Nacional de Industrias Cárnicas de España.
- Antequera, T., Cordoba, J. J., Ruiz, J., Martin, L., Garcia, C., Bermudez, M. E., & Ventanas, J. (1993). Free fatty-acids during the ripening of iberian ham. *Revista Española De Ciencia Y Tecnología De Alimentos*, 33(2), 197-208.
- AOAC. (2000). *Official methods of analysis* (17 ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- Armenteros, M., Aristoy, M.-C., Manuel Barat, J., & Toldra, F. (2012). Biochemical and sensory changes in dry-cured ham salted with partial replacements of NaCl by other chloride salts. *Meat Science*, 90(2), 361-367. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.07.023>
- Armenteros, M., Aristoy, M. C., Barat, J. M., & Toldra, F. (2009). Biochemical changes in dry-cured loins salted with partial replacements of NaCl by KCl. *Food Chemistry*, 117(4), 627-633. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.056>
- Armenteros, M., Aristoy, M. C., & Toldra, F. (2009). Effect of sodium, potassium, calcium and magnesium chloride salts on porcine muscle proteases. *European Food Research and Technology*, 229(1), 93-98. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1029-9>

- Arnau, J. (2007). Factores que afectan a la salazón del jamón curado. *Eurocarne*, 160, 1-15.
- Arnau, J. (2013). Principales problemas tecnológicos en la elaboración del jamón curado. *Eurocarne*, 216, 60-98.
- Arnau, J., Guerrero, L., Casademont, G., & Gou, P. (1995). Physical and chemical-changes in different zones of normal and pse dry-cured ham during processing. *Food Chemistry*, 52(1), 63-69. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(94\)p4182-f](https://doi.org/10.1016/0308-8146(94)p4182-f)
- Arnau, J., Guerrero, L., Hortos, M., & GarciaRegueiro, J. A. (1996). The composition of white film and white crystals found in dry-cured hams. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70(4), 449-452. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0010\(199604\)70:4<449::aid-jsfa520>3.3.co;2-v](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0010(199604)70:4<449::aid-jsfa520>3.3.co;2-v)
- Arnau, J., & Monfort, J. M. (1998). El jamón curado: tecnología y análisis de consumo. In. Simposio especial – 44th International Congress of Meat Science and Technology, Barcelona.
- Arnau, J., Serra, X., Comaposada, J., Gou, P., & Garriga, M. (2007). Technologies to shorten the drying period of dry-cured meat products. *Meat Science*, 77(1), 81-89. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.015>
- Aymerich, T., Picouet, P. A., & Monfort, J. M. (2008). Decontamination technologies for meat products. *Meat Science*, 78(1-2), 114-129. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.007>
- Banon, S., Gil, M. D., Granados, M. V., & Garrido, M. D. (1998). The effect of using PSE meat in the manufacture of dry-cured ham. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung a-Food Research and Technology*, 206(2), 88-93. <https://doi.org/10.1007/s002170050220>
- Barat, J. M., Perez-Esteve, E., Aristoy, M. C., & Toldra, F. (2013). Partial replacement of sodium in meat and fish products by using magnesium salts. A review. *Plant and Soil*, 368(1-2), 179-188. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1461-7>
- Barat, J. M., & Toldra, F. (2011). Reducing salt in processed meat products. *Processed Meats: Improving Safety, Nutrition and Quality*(211), 331-345.

- Bella, A. M., Erickson, R. H., & Kim, Y. S. (1982). Rat intestinal brush-border membrane dipeptidyl-aminopeptidase-IV - kinetic-properties and substrate specificities of the purified enzyme. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 218(1), 156-162. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(82\)90330-7](https://doi.org/10.1016/0003-9861(82)90330-7)
- Bello Gutiérrez, J. (2008). *Jamón Curado. Aspectos científicos y tecnológicos. Perspectiva desde la Unión Europea.*
- Benedini, R., Parolari, G., Toscani, T., & Virgili, R. (2012). Sensory and texture properties of Italian typical dry-cured hams as related to maturation time and salt content [Article]. *Meat Science*, 90(2), 431-437. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.09.001>
- Berenbaum, M. R., & Calla, B. (2021). Honey as a Functional Food for *Apis mellifera*. *Annual Review of Entomology*, Vol 66, 2021, 66, 185-208. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-040320-074933>
- Bermudez, R., Franco, D., Carballo, J., & Lorenzo, J. M. (2014). Physicochemical changes during manufacture and final sensory characteristics of dry-cured Celta ham. Effect of muscle type. *Food Control*, 43, 263-269. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.03.028>
- Bersuder, P., Hole, M., & Smith, G. (1998). Antioxidants from a heated histidine-glucose model system. I: Investigation of the antioxidant role of histidine and isolation of antioxidants by high-performance liquid chromatography. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 75(2), 181-187. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0030-y>
- Bess, K. N., Boler, D. D., Tavarez, M. A., Johnson, H. K., McKeith, F. K., Killefer, J., & Dilger, A. C. (2013). Texture, lipid oxidation and sensory characteristics of ground pork patties prepared with commercially available salts. *Lwt-Food Science and Technology*, 50(2), 408-413. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.09.004>
- Blesa, E., Alino, A., Barat, J. M., Grau, R., Toldra, F., & Pagan, M. J. (2008). Microbiology and physico-chemical changes of dry-cured ham during the post-salting stage as affected by partial replacement of NaCl by other salts. *Meat Science*, 78(1-2), 135-142. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.008>

- Reglamento (CE) nº 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de Diciembre de 2006, relativo a las declaraciones nutricionales y propiedades saludables de los alimentos., (2006).
- Reglamento (UE) No 432/2012 De La Comisión de 16 de mayo de 2012 por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños, (2012).
- Real Decreto 4/2014, de 10 de enero, por el que se aprueba la norma de calidad para la carne, el jamón , la paleta y la caña de lomo ibérico., (2014).
- Bourne, M. C., Kenny, J. F., & Barnard, J. (1978). Computer-assisted readout of data from texture profile analysis curves. *Journal of Texture Studies*, 9(4), 481-494. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1978.tb01219.x>
- Bueno-Gavila, E., Abellan, A., Giron-Rodriguez, F., Cayuela, J. M., Salazar, E., Gomez, R., & Tejada, L. (2019). Bioactivity of hydrolysates obtained from bovine casein using artichoke (*Cynara scolymus* L.) proteases. *Journal of Dairy Science*, 102(12), 10711-10723. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16596>
- Calvo, L., Toldrá, F., Rodríguez, A. I., López-Bote, C., & Rey, A. I. (2017). Effect of dietary selenium source (organic vs. mineral) and muscle pH on meat quality characteristics of pigs. *Food Science & Nutrition*, 5(1), 94-102. <https://doi.org/10.1002/fsn3.368>
- Candek-Potokar, M., & Skrlep, M. (2012). Factors in pig production that impact the quality of dry-cured ham: a review [Review]. *Animal*, 6(2), 327-338. <https://doi.org/10.1017/s1751731111001625>
- Carrapiso, A. I., & Garcia, C. (2008). Effect of the Iberian pig line on dry-cured ham characteristics. *Meat Science*, 80(2), 529-534. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.02.004>
- Castellano, P., Mora, L., Escudero, E., Vignolo, G., Aznar, R., & Toldra, F. (2016). Antilisterial peptides from Spanish dry-cured hams: Purification and identification. *Food Microbiology*, 59, 133-141. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.05.018>

- Castillo-Zamudio, R. I., Paniagua-Martinez, I., Ortuno-Cases, C., Garcia-Alvarado, M., Larrea, V., & Benedito, J. (2021). Use of high-power ultrasound combined with supercritical fluids for microbial inactivation in dry-cured ham. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 67, Article 102557. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102557>
- Cava, R., Ferrer, J. M., Estevez, M., Morcuende, D., & Toldra, F. (2004). Composition and proteolytic and lipolytic enzyme activities in muscle Longissimus dorsi from Iberian pigs and industrial genotype pigs. *Food Chemistry*, 88(1), 25-33. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.037>
- Cittadini, A., Dominguez, R., Gomez, B., Pateiro, M., Perez-Santaescolastica, C., Lopez-Fernandez, O., . . . Lorenzo, J. M. (2020). Effect of NaCl replacement by other chloride salts on physicochemical parameters, proteolysis and lipolysis of dry-cured foal "cecina". *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 57(5), 1628-1635. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04195-6>
- Coll-Brasas, E., Arnau, J., Gou, P., Lorenzo, J. M., Garcia-Perez, J. V., & Fulladosa, E. (2019). Effect of high pressure processing temperature on dry-cured hams with different textural characteristics. *Meat Science*, 152, 127-133. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.02.014>
- Cordoba, J. J., Antequera, T., Ventanas, J., Lopezbote, C., Garcia, C., & Asensio, M. A. (1994). Hydrolysis and loss of extractability of proteins during ripening of iberian ham. *Meat Science*, 37(2), 217-227. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(94\)90082-5](https://doi.org/10.1016/0309-1740(94)90082-5)
- Cordoba, J. J., Rojas, T. A., Gonzalez, C. G., Barroso, J. V., Bote, C. L., & Asensio, M. A. (1994). Evolution of free amino-acids and amines during ripening of iberian cured ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(10), 2296-2301. <https://doi.org/10.1021/jf00046a040>
- Costa-Corredor, A., Serra, X., Arnau, J., & Gou, P. (2009). Reduction of NaCl content in restructured dry-cured hams: Post-resting temperature and drying level effects on physicochemical and sensory parameters. *Meat Science*, 83(3), 390-397. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.011>

- Coutron-Gambotti, C., Gandemer, G., Rousset, S., Maestrini, O., & Casabianca, F. (1999). Reducing salt content of dry-cured ham: effect on lipid composition and sensory attributes. *Food Chemistry*, 64(1), 13-19. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(98\)00111-3](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00111-3)
- Córdoba, J. J. (1990). *Transformaciones de los componentes nitrogenados durante la maduración del jamón de cerdo ibérico*. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.
- de Avila, M. D. R., Hoz, L., Ordonez, J. A., & Cambero, M. I. (2014). Dry-cured ham restructured with fibrin. *Food Chemistry*, 159, 519-528. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.051>
- del Olmo, A., Calzada, J., & Nunez, M. (2013). Lipolysis, Lipid Peroxidation, and Color Characteristics of Serrano Hams from Duroc and Large White Pigs during Dry-Curing. *Journal of Food Science*, 78(11), C1659-C1664. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12281>
- Delgado-Pando, G., Fischer, E., Allen, P., Kerry, J. P., O'Sullivan, M. G., & Hamill, R. M. (2018). Salt content and minimum acceptable levels in whole-muscle cured meat products. *Meat Science*, 139, 179-186. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.01.025>
- Dellafiora, L., Paoella, S., Dall'Asta, C., Dossena, A., Cozzini, P., & Galaverna, G. (2015). Hybrid in Silico/in Vitro Approach for the Identification of Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitory Peptides from Parma Dry-Cured Ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(28), 6366-6375. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02303>
- Desmond, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*, 74(1), 188-196. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.014>
- Escudero, E., Aristoy, M.-C., Nishimura, H., Arihara, K., & Toldra, F. (2012). Antihypertensive effect and antioxidant activity of peptide fractions extracted from Spanish dry-cured ham. *Meat Science*, 91(3), 306-311. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.008>
- Escudero, E., Mora, L., Fraser, P. D., Aristoy, M.-C., & Toldra, F. (2013a). Identification of novel antioxidant peptides generated in Spanish dry-cured ham. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1282-1288. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.133>

- Escudero, E., Mora, L., Fraser, P. D., Aristoy, M. C., Arihara, K., & Toldra, F. (2013). Purification and Identification of antihypertensive peptides in Spanish dry-cured ham. *Journal of Proteomics*, 78, 499-507. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.10.019>
- Escudero, E., Mora, L., & Toldra, F. (2014). Stability of ACE inhibitory ham peptides against heat treatment and in vitro digestion. *Food Chemistry*, 161, 305-311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.117>
- Escudero, E., Mora, M., Fraser, P. D., Aristoy, M. C., & Toldra, F. (2013b). Identification of novel antioxidant peptides generated in Spanish dry-cured ham. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1282-1288. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.133>
- Escudero, E., Sentandreu, M. A., & Toldra, F. (2010). Characterization of Peptides Released by in Vitro Digestion of Pork Meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(8), 5160-5165. <https://doi.org/10.1021/jf904535m>
- Ferreira, J. P., Butler, J., Rossignol, P., Pitt, B., Anker, S. D., Kosiborod, M., . . . Zannad, F. (2020). Abnormalities of Potassium in Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 75(22), 2836-2850.
- Flores, M., Aristoy, M. C., Antequera, T., Barat, J. M., & Toldra, F. (2009). Effect of prefreezing hams on endogenous enzyme activity during the processing of Iberian dry-cured hams. *Meat Science*, 82(2), 241-246. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.01.017>
- Flores, M., Aristoy, M. C., Spanier, A. M., & Toldra, F. (1997). Non-volatile components effects on quality of "Serrano" dry-cured ham as related to processing time. *Journal of Food Science*, 62(6), 1235-1239. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb12252.x>
- Folch, J., Lees, M., & Stanley, G. H. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497-509.
- Frankel, E. N. (1984). Lipid oxidation - mechanisms, products and biological significance. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 61(12), 1908-1917. <https://doi.org/10.1007/bf02540830>

- Frye, C. B., Hand, L. W., Calkins, C. R., & Mandigo, R. W. (1986). Reduction or replacement of sodium-chloride in a tumbled ham product. *Journal of Food Science*, 51(3), 836-837. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1986.tb13945.x>
- Fuentes, A., Verdu, S., Fuentes, C., Grau, R., & Barat, J. M. (2018). Reducing sodium content in dry-cured pork loin. A novel process using water vapour permeable bags. *Ids'2018: 21st International Drying Symposium*, 1663-1670. <https://doi.org/10.4995/ids2018.2018.7627>
- Fuentes García, F. C., Sánchez Sánchez, J. M., & Gonzalo Abascal, C. (2006). *Tratado de Etnología Animal: razas de rumiantes y monogástricos*. (D. M. Librero-Editor, Ed.).
- Fuentes, V., Ventanas, S., Ventanas, J., & Estevez, M. (2014). The genetic background affects composition, oxidative stability and quality traits of Iberian dry-cured hams: Purebred Iberian versus reciprocal Iberian x Duroc crossbred pigs. *Meat Science*, 96(2), 737-743. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.10.010>
- Fulladosa, E., Muñoz, I., Serra, X., Arnau, J., & Gou, P. (2015). X-ray absorptiometry for non-destructive monitoring of the salt uptake in bone-in raw hams during salting. *Food Control*, 47, 37-42. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.06.023>
- Fulladosa, E., Santos-Garces, E., Picouet, P., & Gou, P. (2010). Prediction of salt and water content in dry-cured hams by computed tomography. *Journal of Food Engineering*, 96(1), 80-85. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.06.044>
- Fulladosa, E., Serra, X., Gou, P., & Arnau, J. (2009). Effects of potassium lactate and high pressure on transglutaminase restructured dry-cured hams with reduced salt content. *Meat Science*, 82(2), 213-218. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.01.013>
- Gallego, M., Aristoy, M. C., & Toldra, F. (2014). Dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides generated in Spanish dry-cured ham. *Meat Science*, 96(2), 757-761. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.09.014>
- Gallego, M., Mauri, L., Aristoy, M. C., Toldra, F., & Mora, L. (2020). Antioxidant peptides profile in dry-cured ham as affected by

- gastrointestinal digestion. *Journal of Functional Foods*, 69, Article 103956. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103956>
- Gallego, M., Mora, L., Hayes, M., Reig, M., & Toldra, F. (2019). Peptides with Potential Cardioprotective Effects Derived from Dry-Cured Ham Byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(4), 1115-1126. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b05888>
- Gallego, M., Mora, L., & Toldra, F. (2018). Characterisation of the antioxidant peptide AEEEYPDL and its quantification in Spanish dry-cured ham. *Food Chemistry*, 258, 8-15. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.035>
- Garcia, C., Ventanas, J., Antequera, T., Ruiz, J., Cava, R., & Alvarez, P. (1996). Measuring sensorial quality of Iberian Ham by Rasch model. *Journal of Food Quality*, 19(5), 397-412. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1996.tb00434.x>
- Garcia, N. (2004). Efforts to control mites on Iberian ham by physical methods. *Experimental and Applied Acarology*, 32(1-2), 41-50. <https://doi.org/10.1023/B:APPA.0000018165.80420.c9>
- Garcia-Gil, N., Munoz, I., Santos-Garces, E., Arnau, J., & Gou, P. (2014). Salt uptake and water loss in hams with different water contents at the lean surface and at different salting temperatures. *Meat Science*, 96(1), 65-72. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.06.012>
- Garcia-Gil, N., Santos-Garces, E., Fulladosa, E., Laverse, J., Del Nobile, M. A., & Gou, P. (2014). High pressure induces changes in texture and microstructure of muscles in dry-cured hams. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22, 63-69. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.01.004>
- García-Esteban, M., Ruiz, J., Ansorena, D., & Astiasarán, I. (2005). Evaluación de la calidad sensorial del jamón curado. *Eurocarne*, 135.
- García-Torres, S., Díaz-Caro, C., Elghannam, A., & Mesías, F. J. (2020). Las preferencias del consumidor hacia el jamón ibérico y su relación con el sistema de producción *Eurocarne*, 288.
- Gemechu, F. G. (2020). Embracing nutritional qualities, biological activities and technological properties of coffee byproducts in functional food

- formulation. *Trends in Food Science & Technology*, 104, 235-261.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.005>
- Girón, J., Grau, R., & Barat, J. M. (2018). Ham salting in plástic bags: A way to reduce salt use? [Salado de jamones en bolsas: ¿Una manera de reducir el uso de sal?]. *Agronomía Colombiana*, 36(2), 166-173.
<https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v36n2.71130>
- Gomes, H. B., Rodrigues, L. M., Massingue, A. A., Lima, I. A., Ramos, A. D. S., & Ramos, E. M. (2020). Sensory profile and technological characterization of boneless dry-cured ham with lactulose added as a prebiotic. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(2), 339-348.
<https://doi.org/10.5713/ajas.19.0152>
- Gomez, I., Janardhanan, R., Ibanez, F. C., & Beriain, M. J. (2020). The Effects of Processing and Preservation Technologies on Meat Quality: Sensory and Nutritional Aspects. *Foods*, 9(10), Article 1416.
<https://doi.org/10.3390/foods9101416>
- Gomez-Salazar, J. A., Galvan-Navarro, A., Lorenzo, J. M., & Sosa-Morales, M. E. (2021). Ultrasound effect on salt reduction in meat products: a review. *Current Opinion in Food Science*, 38, 71-78.
<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.030>
- González Viñas, M. A., Bondoso, W., & García Ruiz, A. (2003). Estudio comparativo de las características físico-químicas y sensoriales de jamones ibéricos y serranos según el tipo de músculo. *Eurocarne*, 113.
- Gratacos-Cubarsi, M., Sarraga, C., Castellari, M., Valero, A., Regueiro, J. A. G., & Arnau, J. (2013). Effect of pH(24h), curing salts and muscle types on the oxidative stability, free amino acids profile and vitamin B2, B3 and B6 content of dry-cured ham. *Food Chemistry*, 141(3), 3207-3214.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.016>
- Guardia, M. D., Guerrero, L., Gelabert, J., Gou, P., & Arnau, J. (2006). Consumer attitude towards sodium reduction in meat products and acceptability of fermented sausages with reduced sodium content. *Meat Science*, 73(3), 484-490.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.01.009>

- Guo, X. X., Tao, S., Pan, J. F., Lin, X. P., Ji, C. F., Liang, H. P., . . . Li, S. J. (2020). Effects of L-Lysine on the physiochemical properties and sensory characteristics of salt-reduced reconstructed ham. *Meat Science*, 166, Article 108133. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108133>
- Harnedy, P. A., & FitzGerald, R. J. (2012). Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 6-24. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.09.001>
- Heres, A., Gallego, M., Mora, L., & Toldra, F. (2022). Identification and Quantitation of Bioactive and Taste-Related Dipeptides in Low-Salt Dry-Cured Ham. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5), Article 2507. <https://doi.org/10.3390/ijms23052507>
- Heres, A., Mora, L., & Toldrá, F. (2021). Inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase enzyme by dipeptides identified in dry-cured ham. *Food Production, Processing and Nutrition*, 3(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s43014-021-00058-w>
- Heres, A., Yokoyama, I., Gallego, M., Toldra, F., Arihara, K., & Mora, L. (2021). Antihypertensive potential of sweet Ala-Ala dipeptide and its quantitation in dry-cured ham at different processing conditions. *Journal of Functional Foods*, 87, Article 104818. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104818>
- Hernandez, P., Zomeno, L., Arino, B., & Blasco, A. (2004). Antioxidant, lipolytic and proteolytic enzyme activities in pork meat from different genotypes. *Meat Science*, 66(3), 525-529. [https://doi.org/10.1016/s0309-1740\(03\)00155-4](https://doi.org/10.1016/s0309-1740(03)00155-4)
- Higgs, J. D. (2000). The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. *Trends in Food Science & Technology*, 11(3), 85-95. [https://doi.org/10.1016/s0924-2244\(00\)00055-8](https://doi.org/10.1016/s0924-2244(00)00055-8)
- Hospital, X. F., Hierro, E., Arnau, J., Carballo, J., Aguirre, J. S., Gratacos-Cubarsi, M., & Fernandez, M. (2017). Effect of nitrate and nitrite on *Listeria* and selected spoilage bacteria inoculated in dry-cured ham. *Food Research International*, 101, 82-87. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.039>

- Huang, D. J., Ou, B. X., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Huang, Y., Ruan, G., Qin, Z., Li, H., & Zheng, Y. (2017). Antioxidant activity measurement and potential antioxidant peptides exploration from hydrolysates of novel continuous microwave-assisted enzymolysis of the *Scomberomorus niphonius* protein. *Food Chemistry*, 223, 89-95. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.026>
- IARC. (2018). *Red meat and Processed Meat* (IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans, Issue.
- Iiyama, S., Ezaki, S., & Toko, K. (2001). Analysis of saltiness and bitterness of inorganic salts using taste sensors. *Sensors and Materials*, 13(3), 137-144.
- 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 & Technology*, 59, 70-78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.016>
- ISO. (1996). *Determination of chloride content Part 1: Volhard method*. Norma ISO 1841-1:1996.
- ISO. (1997). *Determination of Moisture Content (Reference Method)*.
- ISO. (1998). *Determination of ash content*. Norma ISO 936:1998.
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Protection of Food by drying*.
- Jimenez-Colmenero, F., Ventanas, J., & Toldra, F. (2010). Nutritional composition of dry-cured ham and its role in a healthy diet. *Meat Science*, 84(4), 585-593. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.10.029>
- Jones, B. N., Paabo, S., & Stein, S. (1981). Amino-acid-analysis and enzymatic sequence determination of peptides by an improved ortho-phthaldialdehyde pre-column labeling procedure. *Journal of Liquid Chromatography*, 4(4), 565-586. <https://doi.org/10.1080/01483918108059956>
- Kaneko, K. (2021). Appetite regulation by plant-derived bioactive peptides for promoting health. *Peptides*, 144, Article 170608. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2021.170608>

- Kemp, J. D., Abidoye, D. F. O., Langlois, B. E., Franklin, J. B., & Fox, J. D. (1980). Effect of curing ingredients, skinning, and boning on yield, quality, and microflora of country hams. *Journal of Food Science*, 45(2), 174-177. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb02570.x>
- Kemp, J. D., & Fox, J. D. (1977). Producing boneless dry-cured hams with different amounts of curing ingredients. *Journal of food science*, 42(6), 1-2.
- Kemp, J. D., Langlois, B. E., Solomon, M. B., & Fox, J. D. (1979). Quality of boneless dry-cured ham produced with or without nitrate, netting or potassium sorbate. *Journal of Food Science*, 44(3), 914-915. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1979.tb08534.x>
- Krvavica, M., Lasic, D., Kljusuric, J. G., Dugum, J., Janovic, S., Milovac, S., & Bosnir, J. (2021). Chemical Characteristics of Croatian Traditional Istarski prsut (PDO) Produced from Two Different Pig Genotypes. *Molecules*, 26(14), Article 4140. <https://doi.org/10.3390/molecules26144140>
- Lan, V. T. T., Ito, K., Ohno, M., Motoyama, T., Ito, S., & Kawarasaki, Y. (2015). Analyzing a dipeptide library to identify human dipeptidyl peptidase IV inhibitor. *Food Chemistry*, 175, 66-73. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.131>
- Leak, F. W., Kemp, J. D., Fox, J. D., & Langlois, B. E. (1987). Effects of boning time, mechanical tenderization and partial replacement of sodium-chloride on the quality and microflora of boneless dry-cured ham. *Journal of Food Science*, 52(2), 263-266. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1987.tb06588.x>
- Li, H., Wu, J., Wan, J., Zhou, Y., & Zhu, Q. (2022). Extraction and identification of bioactive peptides from Panxian dry-cured ham with multifunctional activities. *Lwt-Food Science and Technology*, 160, Article 113326. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113326>
- Li, P., Xu, F., Zhou, H., Gao, Y., Zhu, H., Nie, W., . . . Xu, B. (2022). Evolution of antioxidant peptides and their proteomic homology during processing of Jinhua ham. *Lwt-Food Science and Technology*, 166, Article 113771. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113771>

- Liu, C. L., Wan, J., Zhou, Y., Hu, K., Zhu, Q. J., Tang, P. Y., . . . Song, L. (2022). Proteome profile of glycerol-mediated salt-reduction cured meat reveals the formation mechanism of eating quality. *Food Chemistry*, 382, Article 132395. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132395>
- Lopez-Bote, C. J. (1998). Sustained utilization of the Iberian pig breed. *Meat Science*, 49, S17-S27. [https://doi.org/10.1016/s0309-1740\(98\)00072-2](https://doi.org/10.1016/s0309-1740(98)00072-2)
- Lorenzo, J. M., Bermudez, R., Dominguez, R., Guiotto, A., Franco, D., & Purrinos, L. (2015). Physicochemical and microbial changes during the manufacturing process of dry-cured lacon salted with potassium, calcium and magnesium chloride as a partial replacement for sodium chloride. *Food Control*, 50, 763-769. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.10.019>
- Lorenzo, J. M., Cittadini, A., Bermudez, R., Munekata, P. E., & Dominguez, R. (2015). Influence of partial replacement of NaCl with KCl, CaCl₂ and MgCl₂ on proteolysis, lipolysis and sensory properties during the manufacture of dry-cured lacon. *Food Control*, 55, 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.02.035>
- Lorido, L., Estevez, M., Ventanas, J., & Ventanas, S. (2015). Salt and intramuscular fat modulate dynamic perception of flavour and texture in dry-cured hams. *Meat Science*, 107, 39-48. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.03.025>
- Lucarini, M., Sacconi, G., D'Evoli, L., Tufi, S., Aguzzi, A., Gabrielli, P., . . . Lombardi-Boccia, G. (2013). Micronutrients in Italian ham: A survey of traditional products. *Food Chemistry*, 140(4), 837-842. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.020>
- MAPA. (2008). *ETG Jamón Serrano*.
- MAPA. (2022). <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/ganaderia/encuestas-sacrificio-ganado/default.aspx>.
- Marriot, N. G., Graham, P. P., & Claus, J. R. (1991). Accelerated dry curing of pork legs (hams): A review. *Journal of Muscle Foods*, 3, 159-168. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.1992.tb00472.x>
- Martin, A., Cordoba, J. J., Aranda, E., Cordoba, M. G., & Asensio, M. A. (2006). Contribution of a selected fungal population to the volatile

- compounds on dry-cured ham. *International Journal of Food Microbiology*, 110(1), 8-18.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.01.031>
- Martin, M. E., Grao-Cruces, E., Millan-Linares, M. C., & Montserrat-de la Paz, S. (2020). Grape (*Vitis vinifera* L.) Seed Oil: A Functional Food from the Winemaking Industry. *Foods*, 9(10), Article 1360.
<https://doi.org/10.3390/foods9101360>
- Martinez, J., Nieto, G., & Ros, G. (2014). Total antioxidant capacity of meat and meat products consumed in a reference 'Spanish standard diet'. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(12), 2610-2618.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.12577>
- Martinez-Sanchez, S. M., Minguela, A., Prieto-Merino, D., Pilar Zafrilla-Rentero, M., Abellan-Aleman, J., & Montoro-Garcia, S. (2017). The Effect of Regular Intake of Dry-Cured Ham Rich in Bioactive Peptides on Inflammation, Platelet and Monocyte Activation Markers in Humans. *Nutrients*, 9(4), Article 321.
<https://doi.org/10.3390/nu9040321>
- Martuscelli, M., Lupieri, L., Chaves-Lopez, C., Mastrocola, D., & Pittia, P. (2015). Technological approach to reduce NaCl content of traditional smoked dry-cured hams: effect on quality properties and stability. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 52(12), 7771-7782.
<https://doi.org/10.1007/s13197-015-1957-2>
- Martín Bejarano, S. (2001). *Enciclopedia de la carne y productos cárnicos* (E. M. Macias, Ed. Vol. II).
- Martín, L., Córdoba, J., Antequera, T., Timón, M., & Ventanas, J. (1998). Effects of salt and temperature on proteolysis during ripening of iberian ham. *Meat Science*, 49, 145-153.
- Mau, J. L., & Tseng, Y. H. (1998). Nonvolatile taste components of three strains of *Agrocybe cylindracea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(6), 2071-2074. <https://doi.org/10.1021/jf971016k>
- Mejri, L., Vasquez-Villanueva, R., Hassouna, M., Marina, M. L., & Garcia, M. C. (2017). Identification of peptides with antioxidant and antihypertensive capacities by RP-HPLC-Q-TOF-MS in dry

- fermented camel sausages inoculated with different starter cultures and ripening times. *Food Research International*, 100, 708-716. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.072>
- Miguel, M., Recio, I., Gomez-Ruiz, J. A., Ramos, M., & Lopez-Fandino, R. (2004). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis. *Journal of Food Protection*, 67(9), 1914-1920. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-67.9.1914>
- Minkiewicz, P., Iwaniak, A., & Darewicz, M. (2019). BIOPEP-UWM Database of Bioactive Peptides: Current Opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23), Article 5978. <https://doi.org/10.3390/ijms20235978>
- Montoro-Garcia, S., Pilar Zafrilla-Rentero, M., Miguel Celdran-de Haro, F., Jose Pinero-de Armas, J., Toldra, F., Tejada-Portero, L., & Abellan-Aleman, J. (2017). Effects of dry-cured ham rich in bioactive peptides on cardiovascular health: A randomized controlled trial. *Journal of Functional Foods*, 38, 160-167. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.012>
- Montoro-Garcia, S., Velasco-Soria, A., Mora, L., Carazo-Diaz, C., Prieto-Merino, D., Avellaneda, A., . . . Abellan-Aleman, J. (2022). Beneficial Impact of Pork Dry-Cured Ham Consumption on Blood Pressure and Cardiometabolic Markers in Individuals with Cardiovascular Risk. *Nutrients*, 14(2), Article 298. <https://doi.org/10.3390/nu14020298>
- Moore, T. M., Skelley, G. C., & Pilkington, D. W. (2006). Composition and Palatability of Country Cured Hams Comparing Hot Boning, Cold Boning and Intact Hams. *Journal of Food Science*, 57 (1), 1-5. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb05411.x>
- Mora, L., Escudero, E., Arihara, K., & Toldra, F. (2015). Antihypertensive effect of peptides naturally generated during Iberian dry-cured ham processing. *Food Research International*, 78, 71-78. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.11.005>
- Mora, L., Escudero, E., Fraser, P. D., Aristoy, M. C., & Toldra, F. (2014). Proteomic identification of antioxidant peptides from 400 to 2500 Da generated in Spanish dry-cured ham contained in a size-exclusion

- chromatography fraction. *Food Research International*, 56, 68-76.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.12.001>
- Mora, L., Escudero, E., & Toldra, F. (2016). Characterization of the peptide profile in Spanish Teruel, Italian Parma and Belgian dry-cured hams and its potential bioactivity. *Food Research International*, 89, 638-646.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.09.016>
- Mora, L., Escudero, E., Toldra, F., & Aristoy, M. C. (2015). A peptidomic approach to study the contribution of added casein proteins to the peptide profile in Spanish dry-fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 212, 41-48.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.05.022>
- Mora, L., Gallego, M., & Toldra, F. (2018). ACEI-Inhibitory Peptides Naturally Generated in Meat and Meat Products and Their Health Relevance. *Nutrients*, 10(9), Article 1259.
<https://doi.org/10.3390/nu10091259>
- Mora, L., Gonzalez-Rogel, D., Heres, A., & Toldra, F. (2020). Iberian dry-cured ham as a potential source of alpha-glucosidase-inhibitory peptides. *Journal of Functional Foods*, 67, Article 103840.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103840>
- Morales, R., Arnau, J., Serra, X., Guerrero, L., & Gou, P. (2008). Texture changes in dry-cured ham pieces by mild thermal treatments at the end of the drying process. *Meat Science*, 80(2), 231-238.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.11.024>
- Morales, R., Serra, X., Guerrero, L., & Gou, P. (2007). Softness in dry-cured porcine biceps femoris muscles in relation to meat quality characteristics and processing conditions. *Meat Science*, 77(4), 662-669.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.05.020>
- Narvaez-Rivas, M., Gallardo, E., & Leon-Camacho, M. (2012). Analysis of volatile compounds from Iberian hams: a review. *Grasas Y Aceites*, 63(4), 432-454. <https://doi.org/10.3989/gya.070112>
- Narvaez-Rivas, M., Gallardo, E., & Leon-Camacho, M. (2013). Changes in polar and non-polar lipid fractions of subcutaneous fat from Iberian ham during dry-curing process. Prediction of the curing time. *Food*

- Research International*, 54(1), 213-222.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.004>
- Nongonierma, A. B., Mooney, C., Shields, D. C., & FitzGerald, R. J. (2014). In silico approaches to predict the potential of milk protein-derived peptides as dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitors. *Peptides*, 57, 43-51. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.04.018>
- Parolari, G. (1996). Achievements, needs and perspectives in dry-cured ham technology: The example of Parma ham. *Food Science and Technology International*, 2(2), 69-78. <https://doi.org/10.1177/108201329600200203>
- Pateiro, M., Munekata, P. E. S., Cittadini, A., Dominguez, R., & Lorenzo, J. M. (2021). Metallic-based salt substitutes to reduce sodium. *Current Opinion in Food Science*, 38, 21-31. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.029>
- Perez-Palacios, T., Ruiz, J., Martin, D., Barat, J. M., & Antequera, T. (2011). Pre-cure Freezing Effect on Physicochemical, Texture and Sensory Characteristics of Iberian Ham. *Food Science and Technology International*, 17(2), 127-133. <https://doi.org/10.1177/1082013210381435>
- Perez-Santaescolastica, C., Fraeye, I., Barba, F. J., Gomez, B., Tomasevic, I., Romero, A., . . . Lorenzo, J. M. (2019). Application of non-invasive technologies in dry-cured ham: An overview. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 360-374. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.011>
- Petit, G., Jury, V., de Lamballerie, M., Durantou, F., Pottier, L., & Martin, J. L. (2019). Salt Intake from Processed Meat Products: Benefits, Risks and Evolving Practices. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1453-1473. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12478>
- Petricovic, S., Radovic, N. M., Lukic, K., Listes, E., & Medic, H. (2018). Differentiation of dry-cured hams from different processing methods by means of volatile compounds, physico-chemical and sensory analysis. *Meat Science*, 137, 217-227. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.12.001>
- Picouet, P. A., Gou, P., Fulladosa, E., Santos-Garces, E., & Arnau, J. (2013). Estimation of NaCl diffusivity by computed tomography in the

- Semimembranosus muscle during salting of fresh and frozen/thawed hams. *Lwt-Food Science and Technology*, 51(1), 275-280. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.004>
- Pinna, A., Saccani, G., Schivazappa, C., Simoncini, N., & Virgili, R. (2020). Revision of the cold processing phases to obtain a targeted salt reduction in typical Italian dry-cured ham. *Meat Science*, 161, Article 107994. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107994>
- Pogorzelska-Nowicka, E., Atanasov, A. G., Horbanczuk, J., & Wierzbicka, A. (2018). Bioactive Compounds in Functional Meat Products. *Molecules*, 23(2), Article 307. <https://doi.org/10.3390/molecules23020307>
- Pugliese, C., & Sirtori, F. (2012). Quality of meat and meat products produced from southern European pig breeds. *Meat Science*, 90(3), 511-518. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.09.019>
- Purrinos, L., Franco, D., Carballo, J., & Lorenzo, J. M. (2012). Influence of the salting time on volatile compounds during the manufacture of dry-cured pork shoulder "Iacon". *Meat Science*, 92(4), 627-634. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.06.010>
- Quitral, V., Jofre, M. J., Rojas, N., Romero, N., & Valdes, I. (2019). Seaweed as a functional ingredient in meat products. *Revista Chilena De Nutricion*, 46(2), 181-189. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182019000200181>
- Rabe, S., Krings, U., & Berger, R. G. (2003). Initial dynamic flavour release from sodium chloride solutions. *European Food Research and Technology*, 218(1), 32-39. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0798-9>
- Ripolles, S., Campagnol, P. C. B., Armenteros, M., Aristoy, M. C., & Toldra, F. (2011). Influence of partial replacement of NaCl with KCl, CaCl₂ and MgCl₂ on lipolysis and lipid oxidation in dry-cured ham. *Meat Science*, 89(1), 58-64. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.03.021>
- Romero de Avila, M. D., Ordonez, J. A., de la Hoz, L., Herrero, A. M., & Cambero, M. L. (2010). Microbial transglutaminase for cold-set binding of unsalted/salted pork models and restructured dry ham. *Meat Science*, 84(4), 747-754. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.11.011>

- Ros-Polski, V., Koutchma, T., Xue, J., Defelice, C., & Balamurugan, S. (2015). Effects of high hydrostatic pressure processing parameters and NaCl concentration on the physical properties, texture and quality of white chicken meat. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 30, 31-42. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.04.003>
- Rosell, C. M., & Toldra, F. (1998). Comparison of muscle proteolytic and lipolytic enzyme levels in raw hams from Iberian and White pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(1), 117-122. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0010\(199801\)76:1<117::aid-jsfa910>3.3.co;2-y](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0010(199801)76:1<117::aid-jsfa910>3.3.co;2-y)
- Rossi, R., Ratti, S., Moretti, V. M., Vasconi, M., & Corino, C. (2021). Sensory characteristics and volatile compounds of dry cured ham Speck are affected by pig dietary supplementation with antioxidant mixture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(3), 1134-1142. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10724>
- Ruiz, J., Garcia, C., Muriel, E., Andres, A. I., & Ventanas, J. (2002). Influence of sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science*, 61(4), 347-354, Article Pii s0309-1740(01)00204-2. [https://doi.org/10.1016/s0309-1740\(01\)00204-2](https://doi.org/10.1016/s0309-1740(01)00204-2)
- Ruiz-Ramirez, J., Arnau, J., Serra, X., & Gou, P. (2005). Relationship between water content, NaCl content, pH and texture parameters in dry-cured muscles. *Meat Science*, 70(4), 579-587. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.02.007>
- Ruiz-Ramirez, J., Arnau, J., Serra, X., & Gou, P. (2006). Effect of pH(24), NaCl content and proteolysis index on the relationship between water content and texture parameters in biceps femoris and semimembranosus muscles in dry-cured ham. *Meat Science*, 72(2), 185-194. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.06.016>
- Ruusunen, M., & Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, 70(3), 531-541. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.07.016>
- Sadeghi-Mehr, A., Lautenschlaeger, R., & Drusch, S. (2016). Sensory, physicochemical and microbiological properties of dry-cured formed ham: comparison of four different binding systems [Article]. *European*

- Food Research and Technology*, 242(8), 1379-1391.
<https://doi.org/10.1007/s00217-016-2641-0>
- Safa, H., Gatellier, P., Lebert, A., Picgirard, L., & Mirade, P. S. (2015). Effect of Combined Salt and Animal Fat Reductions on Physicochemical and Biochemical Changes During the Manufacture of Dry-Fermented Sausages. *Food and Bioprocess Technology*, 8(10), 2109-2122.
<https://doi.org/10.1007/s11947-015-1563-3>
- Saiga, A., Tanabe, S., & Nishimura, T. (2003). Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(12), 3661-3667. <https://doi.org/10.1021/jf021156g>
- Salazar, E. (2013). *Tecnología y caracterización de productos cárnicos curados obtenidos a partir de cerdo Chato Murciano*. Universidad Católica San Antonio de Murcia (UCAM)].
- Salazar, E., Abellan, A., Cayuela, J. M., Poto, A., Giron, F., Zafrilla, P., & Tejada, L. (2015). Effect of processing time on the quality of dry-cured ham obtained from a native pig breed (Chato Murciano). *Animal Production Science*, 55(1), 113-121. <https://doi.org/10.1071/an13284>
- Salazar, E., Cayuela, J. M., Abellan, A., Poto, A., Peinado, B., & Tejada, L. (2013). A comparison of the quality of dry-cured loins obtained from the native pig breed (Chato Murciano) and from a modern crossbreed pig. *Animal Production Science*, 53(4), 352-359.
<https://doi.org/10.1071/an12237>
- Santos-Garces, E., Gou, P., Garcia-Gil, N., Arnau, J., & Fulladosa, E. (2010). Non-destructive analysis of a(w), salt and water in dry-cured hams during drying process by means of computed tomography. *Journal of Food Engineering*, 101(2), 187-192.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.06.027>
- Sarraga, C., Gil, M., & Garciaregueiro, J. A. (1993). Comparison of calpain and cathepsin (b, l and d) activities during dry-cured ham processing from heavy and light large white-pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62(1), 71-75. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740620110>

- Schivazappa, C., & Virgili, R. (2020). Impact of salt levels on the sensory profile and consumer acceptance of Italian dry-cured ham. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(8), 3370-3377. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10370>
- 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), 136-147. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.025>
- Seman, D. L., Olson, D. G., & Mandigo, R. W. (1980). Effect of reduction and partial replacement of sodium on bologna characteristics and acceptability. *Journal of Food Science*, 45(5), 1116-1121. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb06500.x>
- Sentandreu, M. A., & Toldra, F. (2001). Dipeptidyl peptidase activities along the processing of Serrano dry-cured ham. *European Food Research and Technology*, 213(2), 83-87. <https://doi.org/10.1007/s002170100355>
- Sentandreu, M. A., & Toldra, F. (2006). A fluorescence-based protocol for quantifying angiotensin-converting enzyme activity. *Nature Protocols*, 1(5), 2423-2427. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.349>
- Sentandreu, M. A., & Toldra, F. (2007). Evaluation of ACE inhibitory activity of dipeptides generated by the action of porcine muscle dipeptidyl peptidases. *Food Chemistry*, 102(2), 511-515. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.018>
- Seong, P.-N., Seo, H.-W., Cho, S.-H., Kim, Y.-S., Kang, S.-M., Kim, J.-H., . . . Hoa, V.-B. (2017). Potential Use of Glasswort Powder as a Salt Replacer for the Production of Healthier Dry-Cured Ham Products. *Czech Journal of Food Sciences*, 35(2), 149-159. <https://doi.org/10.17221/152/2016-cjfs>
- Shazly, A. B., He, Z., El-Aziz, M. A., Zeng, M., Zhang, S., Qin, F., & Chen, J. (2017). Fractionation and identification of novel antioxidant peptides from buffalo and bovine casein hydrolysates. *Food Chemistry*, 232, 753-762. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.071>
- Simoncini, N., Pinna, A., Toscani, T., & Virgili, R. (2015). Effect of added autochthonous yeasts on the volatile compounds of dry-cured hams.

- International Journal of Food Microbiology*, 212, 25-33.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.06.024>
- Sirtori, F., Dimauro, C., Bozzi, R., Aquilani, C., Franci, O., Calamai, L., . . . Pugliese, C. (2020). Evolution of volatile compounds and physical, chemical and sensory characteristics of Toscano PDO ham from fresh to dry-cured product. *European Food Research and Technology*, 246(3), 409-424. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03410-0>
- Strazzullo, P., D'Elia, L., Kandala, N.-B., & Cappuccio, F. P. (2009). Salt intake, stroke and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. *The BMJ*.
- Tang, X. Y., He, Z. Y., Dai, Y. F., Xiong, Y. L. L., Xie, M. Y., & Chen, J. (2010). Peptide Fractionation and Free Radical Scavenging Activity of Zein Hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 587-593. <https://doi.org/10.1021/jf9028656>
- Tejada, L., Buendia-Moreno, L., alvarez, E., Palma, A., Salazar, E., Munoz, B., & Abellan, A. (2021). Development of an Iberian Chorizo Salted With a Combination of Mineral Salts (Seawater Substitute) and Better Nutritional Profile. *Frontiers in Nutrition*, 8, Article 642726. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.642726>
- Tejada, L., Buendia-Moreno, L., Hernandez, I., Abellan, A., Maria Cayuela, J., Salazar, E., & Bueno-Gavila, E. (2022). Bioactivities of Mealworm (*Alphitobius diaperinus* L.) Larvae Hydrolysates Obtained from Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Proteases. *Biology-Basel*, 11(5), Article 631. <https://doi.org/10.3390/biology11050631>
- Tejada, J. F., Gandemer, G., Antequera, T., Viau, M., & Garcia, C. (2002). Lipid traits of muscles as related to genotype and fattening diet in Iberian pigs: total intramuscular lipids and triacylglycerols. *Meat Science*, 60(4), 357-363, Article Pii s0309-1740(01)00143-7. [https://doi.org/10.1016/s0309-1740\(01\)00143-7](https://doi.org/10.1016/s0309-1740(01)00143-7)
- Toldra, F., Aristoy, M. C., & Flores, M. (2000). Contribution of muscle aminopeptidases to flavor development in dry-cured ham. *Food Research International*, 33(3-4), 181-185. [https://doi.org/10.1016/s0963-9969\(00\)00032-6](https://doi.org/10.1016/s0963-9969(00)00032-6)

- Toldra, F., Aristoy, M. C., Part, C., Cervero, C., Rico, E., Motilva, M. J., & Flores, J. (1992). Muscle and adipose-tissue aminopeptidase activities in raw and dry-cured ham. *Journal of Food Science*, 57(4), 816-+. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb14301.x>
- Toldra, F., & Etherington, D. J. (1988). Examination of cathepsin-b, cathepsin-d, cathepsin-h and cathepsin-l activities in dry-cured hams. *Meat Science*, 23(1), 1-7. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(88\)90057-5](https://doi.org/10.1016/0309-1740(88)90057-5)
- Toldra, F., & Flores, M. (1998). The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham [Review]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(4), 331-352. <https://doi.org/10.1080/10408699891274237>
- Toldra, F., Gallego, M., Reig, M., Aristoy, M.-C., & Mora, L. (2020a). Recent Progress in Enzymatic Release of Peptides in Foods of Animal Origin and Assessment of Bioactivity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(46), 12842-12855. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b08297>
- Toldra, F., Gallego, M., Reig, M., Aristoy, M. C., & Mora, L. (2020b). Bioactive peptides generated in the processing of dry-cured ham. *Food Chemistry*, 321, Article 126689. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126689>
- Toldra, F., Miralles, M. C., & Flores, J. (1992). Protein extractability in dry-cured ham. *Food Chemistry*, 44(5), 391-394. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(92\)90273-5](https://doi.org/10.1016/0308-8146(92)90273-5)
- Tomazin, U., Skrlep, M., Povse, M. P., Lukac, N. B., Karolyi, D., Cervek, M., & Candek-Potokar, M. (2020). The effect of salting time and sex on chemical and textural properties of dry cured ham. *Meat Science*, 161, Article 107990. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107990>
- Uetake, Y., Ikeda, H., Irie, R., Tejima, K., Matsui, H., Ogura, S., . . . Shimosawa, T. (2015). High-salt in addition to high-fat diet may enhance inflammation and fibrosis in liver steatosis induced by oxidative stress and dyslipidemia in mice. *Lipids in Health and Disease*, 14, Article 6. <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0002-9>

- van Platerink, C. J., Janssen, H. G. M., & Haverkamp, J. (2008). Application of at-line two-dimensional liquid chromatography-mass spectrometry for identification of small hydrophilic angiotensin I-inhibiting peptides in milk hydrolysates. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391(1), 299-307. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-1990-3>
- Vargas-Ramella, M., Lorenzo, J. M., Dominguez, R., Pateiro, M., Munekata, P. E. S., Campagnol, P. C. B., & Franco, D. (2021). Effect of NaCl Partial Replacement by Chloride Salts on Physicochemical Characteristics, Volatile Compounds and Sensorial Properties of Dry-Cured Deer Cecina. *Foods*, 10(3), Article 669. <https://doi.org/10.3390/foods10030669>
- Ventanas, J. (2001). *Tecnología del jamón ibérico. De los sistemas tradicionales a la explotación racional del sabor y el aroma.*
- Ventanas, J. (2009). Parámetros de calidad de la I.G.P. Ibérico de la Dehesa Eurocarne, 174.
- Ventanas, J. (2012). *Jamón ibérico y Serrano. Fundamentos de la elaboración y de la calidad.* Ediciones Mundi-Prensa.
- Ventanas, J., & Silva, A. (2022). *Manual del experto. El cortador y el sommelier del jamón. Claves de la calidad, el corte y la cata del jamón.* (E. D. d. Santos, Ed.).
- Ventanas, S., Ruiz, J., Garcia, C., & Ventanas, J. (2007). Preference and juiciness of Iberian dry-cured loin as affected by intramuscular fat content, crossbreeding and rearing system. *Meat Science*, 77(3), 324-330. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.04.001>
- Vidal, V. A. S., Paglarini, C. S., Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., & Pollonio, M. A. R. (2021). Salted Meat Products: Nutritional Characteristics, Processing and Strategies for Sodium Reduction. *Food Reviews International*. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1949342>
- Virgili, R., Parolari, G., Schivazappa, C., Bordini, C. S., & Borri, M. (1995). Sensory and texture quality of dry-cured ham as affected by endogenous cathepsin B activity and muscle composition. *Journal of Food Science*, 60(6), 1183-1186. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb04551.x>

- Virgili, R., Sacconi, G., Gabba, L., Tanzi, E., & Bordini, C. S. (2007). Changes of free amino acids and biogenic amines during extended ageing of Italian dry-cured ham. *Lwt-Food Science and Technology*, 40(5), 871-878. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.03.024>
- Virgili, R., & Schivazappa, C. (2002). Muscle traits for long matured dried meats. *Meat Science*, 62(3), 331-343, Article Pii s0309-1740(02)00118-3. [https://doi.org/10.1016/s0309-1740\(02\)00118-3](https://doi.org/10.1016/s0309-1740(02)00118-3)
- Virgili, R., Schivazappa, C., Parolari, G., Bordini, C. S., & Degni, M. (1998). Proteases in fresh pork muscle and their influence on bitter taste formation in dry-cured ham. *Journal of Food Biochemistry*, 22(1), 53-63. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1998.tb00230.x>
- Wang, F. S. (2001). Lipolytic and proteolytic properties of dry-cured boneless hams ripened in modified atmospheres. *Meat Science*, 59(1), 15-22. [https://doi.org/10.1016/s0309-1740\(01\)00047-x](https://doi.org/10.1016/s0309-1740(01)00047-x)
- Wang, J., Guo, M., Wang, Q., Dong, J., Lu, S., Lyu, B., & Ma, X. (2021). Antioxidant activities of peptides derived from mutton ham, Xuanwei ham and Jinhua ham. *Food Research International*, 142, Article 110195. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110195>
- Wang, Y. J., Yeh, T. L., Shih, M. C., Tu, Y. K., & Chien, K. L. (2020). Dietary Sodium Intake and Risk of Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis. *Nutrients*, 12(10), Article 2934. <https://doi.org/10.3390/nu12102934>
- Wattanasiritham, L., Theerakulkait, C., Wickramasekara, S., Maier, C. S., & Stevens, J. F. (2016). Isolation and identification of antioxidant peptides from enzymatically hydrolyzed rice bran protein. *Food Chemistry*, 192, 156-162. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.057>
- Wu, H. Z., Zhang, Y. Y., Long, M., Tang, J., Yu, X., Wang, J. M., & Zhang, J. H. (2014). Proteolysis and sensory properties of dry-cured bacon as affected by the partial substitution of sodium chloride with potassium chloride. *Meat Science*, 96(3), 1325-1331. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.10.037>

- Xing, L., Fu, L., Hao, Y., Miao, Y., & Zhang, W. (2022). Xuanwei ham derived peptides exert the anti-inflammatory effect in the dextran sulfate sodium-induced C57BL/6 mice model. *Food Bioscience*, 48, Article 101800. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101800>
- Xing, L., Liu, R., Cao, S., Zhang, W., & Zhou, G. (2019). Meat protein based bioactive peptides and their potential functional activity: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(6), 1956-1966. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14132>
- Xing, L. J., Liu, R., Gao, X. G., Zheng, J. X., Wang, C. H., Zhou, G. H., & Zhang, W. G. (2018). The proteomics homology of antioxidant peptides extracted from dry-cured Xuanwei and Jinhua ham. *Food Chemistry*, 266, 420-426. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.034>
- Zanardi, E., Ghidini, S., Conter, M., & Ianieri, A. (2010). Mineral composition of Italian salami and effect of NaCl partial replacement on compositional, physico-chemical and sensory parameters. *Meat Science*, 86(3), 742-747. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.06.015>
- Zhang, Y. W., Guo, X. Y., Peng, Z. Q., & Jamali, M. A. (2022). A review of recent progress in reducing NaCl content in meat and fish products using basic amino acids. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 215-226. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.009>
- Zhou, Y., Wang, Y., He, J., Pan, D. D., Wang, H. F., & Cao, J. X. (2021). Evaluating the profile of myofibrillar proteins and its relationship with tenderness among five styles of dry-cured hams. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(1), 259-268. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14627>
- Zhou, Y., Zhou, C. Y., Pan, D. D., Wang, Y., & Cao, J. X. (2020). The effect of sodium chloride levels on the taste and texture of dry-cured ham. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(5), 2646-2655. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00511-3>
- Zhu, C. Z., Zhang, W. G., Zhou, G. H., Xu, X. L., Kang, Z. L., & Yin, Y. (2013). Isolation and Identification of Antioxidant Peptides from Jinhua Ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(6), 1265-1271. <https://doi.org/10.1021/jf3044764>

Zurera Cosano, G., Otero Carballeira, A., Carrasco Jiménez, E., Pérez Rodríguez, F., & Valero Diaz, A. (2010). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación al efecto de la reducción de la sal en la seguridad microbiológica de los productos cárnicos curados. *Revista del Comité Científico*, 13, 59-87.

