



Instituto Politécnico
de Castelo Branco
Escola Superior
Agrária



COMPARAÇÃO DE PROCESSOS PROTEOLÍTICOS E LIPOLÍTICOS EM MÚSCULOS DE PRESUNTOS CURADOS DE UMA POPULAÇÃO SUÍNA SELECIONADA DE ACORDO COM CRITÉRIOS TECNOLÓGICOS

Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar

Tiago Luís Cardoso Ferreira Pinhanços de Bianchi

Orientadoras

Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos

Doutora María Hortós Bahí

Agosto de 2013

COMPARAÇÃO DE PROCESSOS PROTEOLÍTICOS E LIPOLÍTICOS EM MÚSCULOS DE PRESUNTOS CURADOS DE UMA POPULAÇÃO SUÍNA SELECIONADA DE ACORDO COM CRITÉRIOS TECNOLÓGICOS

Candidato

Tiago Luís Cardoso Ferreira Pinhanços de Bianchi

Orientadoras

Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos

Doutora María Hortós Bahí

Dissertação apresentada ao Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar, realizada sob a orientação científica da Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos, Professor Adjunto da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco e da Doutora María Hortós Bahí, Investigadora do departamento de Funcionalitat i Nutrició do Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries.

Agosto de 2013

Composição do júri

Presidente do júri

Doutor Manuel Vicente de Freitas Martins

Professor da Escola Superior Agrária de Castelo Branco

Vogais

Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos

Professora da Escola Superior Agrária de Castelo Branco

Doutora María Hortós Bahí

Investigadora do Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries

Doutor Luís Pedro Mota Pinto de Andrade

Professor da Escola Superior Agrária de Castelo Branco

Agradecimentos

Às minhas orientadoras:

A Doutora Maía Hortós Bahí pelo apoio inesgotável ao longo de todo o trabalho, bem como pela confiança, partilha e amizade constantes;

A Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos pelo seu apoio e valiosas correcções na elaboração da dissertação, mas também pela paciência e amizade ao longo destes anos.

Ao Sr. Narcís Saís e aos doutores Isabel Díaz López, Marta Gratacós-Cubarsí e José António García-Regueiro, pela ajuda e companheirismo.

Ao IRTA (Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries) centro de Indústries Alimentàries (Monells) pelo acolhimento e oportunidade de realização deste trabalho.

À empresa PIC España S.A. pela colaboração com a genética animal.

À quinta Turolense Ganadera S.A. e ao matadouro Agroalimentaria Teruel S.A. pelos trabalhos realizados no que se refere à produção e abate dos animais, respectivamente.

À empresa Jamones Montenevado S.A. pela elaboração dos presuntos curados utilizados neste estudo.

À minha família e amigos pelo apoio transfronteiriço.

A todos os que não foram mencionados e de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

A todos o meu sentido agradecimento.

Este trabalho beneficiou do apoio financeiro do Ministerio de Ciencia y Innovación (MICIIN) do Governo de Espanha, projecto n.º AGL2007-60267.

COMPARAÇÃO DE PROCESSOS PROTEOLÍTICOS E LIPOLÍTICOS EM MÚSCULOS DE PRESUNTOS CURADOS DE UMA POPULAÇÃO SUÍNA SELECIONADA DE ACORDO COM CRITÉRIOS TECNOLÓGICOS

Tiago Luís Cardoso Ferreira Pinhanços de Bianchi

Resumo

O objectivo deste trabalho consistiu na avaliação da influência dos critérios tecnológicos utilizados na selecção da matéria-prima, pH no músculo *semimembranosus* às 24 horas *post-mortem* (pH_{24SM}) e espessura de gordura (EG) subcutânea ao nível do músculo *gluteus medius*, sobre os processos proteolíticos, lipolíticos e oxidativos de presunto curado. Para tal foram dissecados os músculos *bíceps femoris* (BF), *quadríceps femoris* (QF) e *semimembranosus* (SM) de sessenta e seis presuntos curados produzidos a partir de pernis de animais provenientes de um cruzamento de linhas de produção de interesse, (Du x LW x L) x Du (halotano negativos). Os presuntos foram elaborados com baixo teor de sal e um processo com perdas de peso constantes nas etapas de repouso e secagem de 10% e 40% do peso inicial, respectivamente. A todas as amostras foram efectuadas análises de composição físico-química, TBARs, índice de acidez, teor de azoto não proteico, perfil de aminoácidos livres e composição de ácidos gordos totais. Os resultados mostraram que o pH_{24SM} das carcaças afectou a oxidação e degradação proteica dos músculos avaliados, enquanto a EG exerceu a sua influência sobre a intensidade processos lipolíticos (IA) e degradação das fracções azotadas (IP) dos músculos com maior teor de gordura (BF e SM). A composição em ácidos gordos foi similar entre os músculos BF e SM e menor no QF, de acordo com o menor conteúdo de gordura intramuscular. Relativamente ao perfil de aminoácidos livres, é evidente a influência notável que o pH_{24SM} exerceu sobre o conteúdo de todos os aminoácidos, à excepção da Tirosina e do Triptofano no músculo SM. Por sua vez, os dipéptidos (Carnosina e Anserina) sofreram uma ligeira influência da EG nos músculos SM e QF, respectivamente.

Palavras-chave

pH_{24SM};

Espessura de gordura;

Presunto curado;

Proteólise;

Lipólise;

Oxidação.

COMPARATIVE EVALUATION OF PROTEOLYTIC AND LIPOLYTIC PROCESSES ON DRY-CURED HAM MUSCLES OF A PIG POPULATION SELECTED IN ACCORDANCE WITH TECHNOLOGICAL CRITERIA

Tiago Luís Cardoso Ferreira Pinhanços de Bianchi

Abstract

The aim of this study was to evaluate how technological criteria used to the raw material selection, pH measured on the *semimembranosus* muscle at 24h *post-mortem* (pH_{24SM}) and subcutaneous adipose tissue thickness (EG) on *gluteus medius* muscle, influence on the proteolytic, lipolytic and oxidative processes of dry-cured ham. *Biceps femoris* (BF), *quadriceps femoris* (QF) and *semimembranosus* (SM) muscles were dissected from sixty six dry-cured hams produced using a dry-cured ham-producing crossbreed line, (Du x LW x L) x Du (halothane negative). The hams were processed under low salt content and controlled weight losses at the end of salting step and at the end of ageing of 10% and 40%, respectively. All samples underwent analysis of proximal composition, TBARs, acidity index, non-protein nitrogen content, free amino acid profile and total fatty acid composition. Results showed the pH_{24SM} influence over oxidation and protein degradation processes on the three muscles, and EG effects on lipolytic processes (IA) intensity and degradation of the nitrogen fractions (IP) on the most fatty muscles (BF and SM). The fatty acid composition was similar in the BF and SM muscles, and lower in the QF, following the intramuscular fat content. Regarding the free amino acid profile it becomes clear that pH_{24SM} had a notorious influence over all amino acid contents, with exception for Tyrosine and Tryptophan on SM muscle. On the other hand, the dipeptides (Carnosine and Anserine) had a slightly influence of EG on SM and QF muscles, respectively.

Keywords

pH_{24SM};

Adipose tissue thickness;

Dry-cured ham;

Proteolysis;

Lipolysis;

Oxidation.

Índice geral

Agradecimentos.....	v
Resumo	vii
Abstract.....	ix
Lista de abreviaturas.....	iv
1. Introdução e objectivos	1
2. O presunto curado	2
2.1. Tecnologia de produção.....	3
2.2. Matéria-prima - Critérios tecnológicos.....	5
2.3. Estrutura e metabolismo muscular	8
2.4. Qualidade sensorial	11
3. Material e métodos.....	14
3.1. Composição físico-química.....	15
3.2. Índice do ácido tiobarbitúrico	15
3.3. Índice de acidez.....	17
3.4. Composição de ácidos gordos totais.....	18
3.5. Teor em azoto não proteico	19
3.6. Perfil de aminoácidos livres.....	20
3.7. Análise estatístico dos resultados.....	22
4. Resultados e discussão.....	23
4.1. Características da população em estudo.....	23
4.2. Seleção dos pernis.....	24
4.3. Características dos presuntos avaliados	25
4.4. Composição físico-química muscular	27
4.5. Índices associados aos processos oxidativos, lipolíticos e proteolíticos.....	33
4.5.1. Influência do sal	34
4.5.2. Influência da espessura de gordura	37
4.5.3. Influência do sexo dos animais.....	40
4.5.4. Influência do pH ₂₄ SM	41
4.5.5. Aminoácidos	42
5. Considerações finais	46
Referências bibliográficas	48

Índice de figuras

Figura 1 – Representação esquemática da dissecação dos músculos <i>bíceps femoris</i> (BF), <i>quadríceps femoris</i> (QF), <i>semimembranosus</i> (SM) e <i>semitendinosus</i> (ST) durante o procedimento de amostragem.	15
Figura 2 – Distribuição relativa dos pesos da matéria-prima de acordo com os resultados da análise de componentes principais.	23
Figura 3 - Distribuição dos pesos das carcaças e pernis avaliados	24
Figura 4 - Distribuição do marmoreado do músculo <i>gluteus medium</i> nas carcaças e pernis avaliados.....	24
Figura 5 – Distribuição dos pernis seleccionados.....	25
Figura 6 – Distribuição relativa dos parâmetros de composição físico-química de acordo com os resultados da análise de componentes principais.....	28
Figura 7 – Representação dos músculos <i>bíceps femoris</i> (BF), <i>quadríceps femoris</i> (QF) e <i>semimembranosus</i> (SM) num sistema de eixos de PCA em função da sua composição físico-química.	29
Figura 8 – Influência do pH ₂₄ SM no conteúdo em colagénio dos músculos (a) <i>biceps femoris</i> , (b) <i>quadriceps femoris</i> e (c) <i>semimembranosus</i>	29
Figura 9 – Influência do pH ₂₄ SM sobre (a) o teor de humidade do músculo <i>quadriceps femoris</i> e (b) teor de gordura do músculo <i>semimembranosus</i>	30
Figura 10 – Influência do teor de gordura muscular sobre o teor de sal dos músculos (a) <i>biceps femoris</i> , (b) <i>quadriceps femoris</i> e (c) <i>semimembranosus</i>	31
Figura 11 – Influência do teor de humidade sobre o teor de sal dos músculos (a) <i>biceps femoris</i> e (b) <i>semimembranosus</i>	31

Lista de tabelas

Tabela 1 - Número de animais e pernis seleccionados por abate.....	14
Tabela 2 – Valores médios e extremos dos pernis da população em estudo	23
Tabela 3 – Coeficientes de correlação entre os pesos da matéria-prima e a espessura de gordura (EG)	24
Tabela 4 – Número e proporção de pernis com valores extremos de pH ₂₄ SM e espessura de gordura	25
Tabela 5 - Valores médios e desvio padrão dos pesos dos presuntos ao longo do processo de elaboração	26
Tabela 6 – Coeficientes de correlação entre os pesos dos presuntos seleccionados durante o processo de elaboração	26
Tabela 7 – Coeficientes de correlação entre os pesos dos presuntos seleccionados e os critérios tecnológicos.....	26
Tabela 8 - Composição físico-química dos músculos <i>bíceps femoris</i> (BF), <i>quadriceps femoris</i> (QF) e <i>semimembranosus</i> (SM) no final do processo	27
Tabela 9 - Influências do teor salino e características das carcaças na composição físico-química dos músculos <i>bíceps femoris</i> (BF), <i>quadriceps femoris</i> (QF) e <i>semimembranosus</i> (SM) (N=66)	28
Tabela 10 – Conteúdo em compostos oxidativos e fracções azotadas dos músculos <i>bíceps femoris</i> (BF), <i>quadriceps femoris</i> (QF) e <i>semimembranosus</i> (SM).....	34
Tabela 11 - Influência das características da matéria-prima e do sal sobre a oxidação e degradação das biomoléculas.....	34
Tabela 12 – Coeficientes de correlação dos índices oxidativos e lipolíticos com os índices avaliados	36
Tabela 13 – Composição em ácidos gordos (g/100g) maioritários dos músculos <i>bíceps femoris</i> (BF), <i>quadriceps femoris</i> (QF) e <i>semimembranosus</i> (SM).....	38
Tabela 14 – Coeficientes de correlação entre a quantidade de sal absorvida e os índices de lipólise e proteólise.....	39
Tabela 15 – Valores médios e desvios padrão do índice de proteólise (IP) e teor de azoto não proteico (NNP) dos músculos <i>quadriceps femoris</i> (QF) e <i>semimembranosus</i> (SM) de fêmeas e machos castrados.....	40
Tabela 16 - Conteúdo (mg/g) em aminoácidos e dipéptidos dos músculos <i>bíceps femoris</i> (BF), <i>quadriceps femoris</i> (QF) e <i>semimembranosus</i> (SM)	43
Tabela 17 – Coeficientes de correlação entre o pH ₂₄ SM e os aminoácidos dos músculos <i>bíceps femoris</i> (BF), <i>quadriceps femoris</i> (QF) e <i>semimembranosus</i> (SM).....	44

Lista de abreviaturas

Du: Duroc

LW: Large white

L: Landrace

RYR: gene vinculado ao receptor da Rianodina (do inglês, Ryanodine receptor)

pH₂₄SM: pH no músculo *Semimembranosus* às 24 horas *post-mortem*

EG: espessura de gordura subcutânea (mm) ao nível do músculo *gluteus medius*

GM: músculo *gluteus medius*

BF: músculo *bíceps femoris*

QF: músculo *quadríceps femoris*

SM: músculos *semimembranosus*

Aw: actividade de água

DFD: carnes escuras, duras e secas (do inglês, Dark, Firm e Dry)

PSE: carnes pálidas, moles e exsudativas (do inglês, pale, soft e exsudative)

HAL: gene do halotano

PM: peso molecular

NNP: teor de azoto não proteico

TBARs: substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico (do inglês, Thiobarbituric

Acid Reactive substances)

EDTA: ácido etilenodiaminotetracético

MDA: malondialdeído

TEP: 1,1,3,3-tetraetoxipropano

IA: índice de acidez

HPLC: cromatografia líquida de alta pressão

Sexo C: machos castrados

Sexo F: fêmeas

IP: índice de proteólise

Aas: aminoácidos

MUFAs: ácidos gordos monoinsaturados

PUFAs: ácidos gordos polinsaturados

SFAs: ácidos gordos saturados

Aminoácidos: GLU (ácido glutâmico), LYS (lisina), LEU (leucina), TYR (tirosina), ARG (arginina), HIS (histidina), TAU (taurina), TRP (triptofano), ALA (alanina), VAL (valina), PRO (prolina), ILE (isoleucina), THR (treonina), SER (serina), PHE (fenilalanina), GLY (glicina), MET (metionina), ASP (ácido aspártico), ASN (asparagina).

Ácidos gordos: C12:0 (láurico), C14:0 (mirístico), C16:0 (palmítico), C17:0 (margárico), C18:0 (esteárico), C16:1(n-7) (palmitoleico), C16:1(n-9) (cis-7-hexadecenoico), C17:1 (heptadecenoico), C18:1(n-9) (oleico), C18:1(n-7) (cis-vaccénico), 20:1(n-9) (eicosenoico), C18:2(n-6) (linoleico), C18:3(n-3) (α -linolénico), C20:2(n-6) (eicosadienoico), C20:3(n-6) (dihomo- γ -linolenico), C20:4(n-6) (araquidónico).

1. Introdução e objectivos

Actualmente, a indústria do presunto curado enfrenta o constante e crescente desafio de colocar à disposição dos consumidores um produto que cumpra, tanto os requisitos de qualidade organoléptica, como os de qualidade nutricional, sem abdicar do rendimento tecnológico. Torna-se necessário o desenvolvimento de estratégias que avancem no sentido da actual procura de produtos cárneos com menores teores de gordura e de sal, embora no caso do presunto curado condicionem seriamente a sua aceitação por parte dos consumidores. Deste modo, é imprescindível uma abordagem alternativa que resida numa melhora do controlo das características relativas à matéria-prima.

O desenvolvimento das características de qualidade e dos defeitos associados ao presunto curado resultam das condições estabelecidas ao longo processo tecnológico, como o teor de sal, a temperatura ou a duração do processo, mas também da qualidade da matéria-prima, nomeadamente a origem genética dos animais ou factores relativos à qualidade da carne. O sal é o ingrediente mais importante do processo de elaboração de presunto curado e a tendência para reduzir o seu teor nos produtos cárneos conduz a um aumento da incidência de defeitos sensoriais especialmente relacionados com a textura. Por sua vez, o pH da carne e o peso dos animais são parâmetros que influenciam a qualidade do produto final. O pH da carne varia consideravelmente entre músculos (Arnau et al. 1995) e, em conjunto com a atividade das catepsinas e as perdas de peso pós-salga (Schivazappa et al. 2002) relacionaram-se com o aparecimento de presuntos com textura defeituosa, associada a uma proteólise intensa. O peso dos presuntos incide sobre a sua composição físico-química e condiciona a duração do processo de elaboração (Gallo et al. 1994; Lo Fiego et al. 2005; Cilla et al. 2006; García-Rey et al. 2006), enquanto o marmoreado é uma característica apreciada pelos consumidores. O conteúdo e composição lipídica dos músculos dependem das condições dos sistemas de produção, principalmente do genótipo e alimentação (revisto em Gandemer, 2002; Lebret et al. 2002; Carrapiso et al. 2003; Petrón et al. 2004; Carrapiso e García, 2005). Deste modo, o marmoreado e a composição da gordura podem influir na distribuição de sal condicionando o desenvolvimento do processo (Coutron-Gambotti et al. 1999; Andres et al. 2005). Enquanto um certo teor de gordura é uma característica desejável, uma composição inadequada de gordura pode influenciar negativamente os mecanismos de oxidação durante o processo de elaboração e, conseqüentemente, a estabilidade oxidativa do produto final.

O modelo experimental contempla o estudo de animais provenientes de um cruzamento (Du x LW x L) x Du, pois representam os genótipos geralmente utilizados na produção suína espanhola e os pernis possuem uma conformação adequada para a produção de presuntos curados de qualidade. Deste modo, foi possível obter um amplo espectro de variabilidade genética dentro de uma única população suína. A utilização de animais seleccionados geneticamente para o gene do halotano (HAL), considerou-se conveniente para evitar a influência negativa que o desenvolvimento de carnes PSE exerce sobre a qualidade da carne. Os presuntos foram elaborados com baixo teor de sal (0,7 dias/kg) e um processo de cura com perdas de peso constantes, de forma a limitar a influência do tempo de duração do processo sobre a evolução do produto final.

O presente estudo tem por objectivo a avaliação da influência dos critérios tecnológicos utilizados na selecção da matéria-prima (pH₂₄SM, pH no músculo *semimembranosus* às 24 horas *post-mortem*, e EG, espessura de gordura subcutânea) sobre os processos proteolíticos, lipolíticos e oxidativos dos músculos *bíceps femoris* (BF), *quadríceps femoris* (QF) e *semimembranosus* (SM) de presuntos curados.

2. O presunto curado

O presunto curado é um produto cárneo elaborado a partir da salga da extremidade posterior do porco, considerada como uma peça completa e constituída por todos os seus ossos, músculos e tecidos adiposo, conectivo e nervoso, seguida de um período de repouso ou pós-salga e de uma etapa de secagem ou maturação.

A composição do pernil varia em função da raça do animal, idade, sexo e alimentação. O músculo é constituído essencialmente por água, proporções variáveis de proteínas e lípidos e, em menor quantidade, por hidratos de carbono e compostos inorgânicos. A água encontra-se maioritariamente no interior das células musculares e representa cerca de 68 a 80% do peso do músculo, enquanto as proteínas representam entre 15 e 22% e os lípidos são o componente mais variável com uma contribuição de 0,5 a 22% do peso (Lawrie, 1988 e 1991; Kauffman, 2001). O presunto curado é uma óptima fonte de ferro (1,8-3,3 mg/100g), zinco (2,2-3,0 mg/100g), selénio (10-14 µg/100g), vitaminas do grupo B, tiamina (B1, 0,57-0,84 mg/100g), riboflavina (B2, 0,20-0,25 mg/100g), niacina, vitamina B6 e vitamina B12 (15 µg/100g) (Directiva 90/496/ECC, 2008). No entanto, não contém quantidades notáveis de vitaminas A, C, D, E ou K, embora no caso da vitamina E, o seu conteúdo tenha vindo a

umentar nos últimos anos devido às alterações nas dietas dos animais (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2010).

Os processos de salga e de secagem constituem um método de conservação da carne que o Homem tem vindo a utilizar desde a antiguidade. A elaboração de presunto curado a nível industrial baseia-se na combinação destes processos artesanais, permitindo a obtenção de um produto estável e com características organolépticas adequadas às crescentes e constantes exigências dos consumidores. A conversão da matéria-prima em presunto curado apto para o consumo humano reside na utilização do sal, que reduz a actividade de água (*Aw*) a valores próximos de 0,88, associada a uma temperatura baixa nas etapas iniciais e um decréscimo do pH a valores próximos de 6. Todos estes factores contribuem ao desenvolvimento do conjunto de reacções químicas e bioquímicas que afectam principalmente proteínas e lípidos e que conferirão as características sensoriais típicas do presunto curado.

2.1. Tecnologia de produção

As características do presunto curado dependem do método de fabrico, que varia de acordo com o país de origem e a duração do processo. Geralmente, a elaboração do presunto curado consta de quatro etapas principais: selecção da matéria-prima, salga, repouso ou pós-salga e secagem ou maturação.

Parâmetros que regulam o processo

O sal é o ingrediente mais importante e exerce uma influência notável sobre a estrutura da matéria-prima. A tendência para reduzir o teor de sal dos produtos cárneos acarreta um aumento da incidência de diferentes defeitos sensoriais, especialmente relacionados com a textura, uma vez que variações significativas da concentração salina muscular podem modificar o alcance e a intensidade dos processos proteolíticos, lipolíticos e oxidativos que se desenvolvem durante o processo de cura. Diversos estudos relacionam o teor de sal com a dureza e a intensidade da actividade proteolítica que, por sua vez, estão directamente implicados na incidência da adesividade e da pastosidade (Parolari *et al.*, 1994; Hortós, 1995; Virgili *et al.*, 1995; Guerrero *et al.*, 2000; Andrés *et al.*, 2004; Brewer, 2004). Ambos se consideram dois dos principais defeitos de textura em presunto curado, uma vez que afectam seriamente a aceitação por parte do consumidor, constituindo também uma barreira ao correcto processo tecnológico (Arnau, 1991).

O efeito da temperatura na elaboração de presunto curado reside na sua capacidade de limitar o crescimento microbiano durante as primeiras etapas do processo e de actuar, em conjunto com a humidade relativa, como reguladora da difusão e evaporação de água durante a secagem. Em presuntos magros, com pouca espessura de gordura e teor de sal elevado, uma temperatura também elevada pode ser de interesse com vista a favorecer a proteólise. De igual modo, em presuntos grandes ou de maior conformação, com baixo teor de sal e elevado potencial proteolítico, o efeito de uma temperatura elevada pode ser prejudicial se se favorece uma proteólise excessiva (Gutiérrez, 2008).

As etapas do processo

A selecção da matéria-prima deve ter em consideração não só o teor de gordura das peças bem como o teor de gordura muscular infiltrada para regular adequadamente a duração do processo, de forma que quanto mais longo este seja, mais gordura infiltrada se necessita. As peças devem ser mantidas a uma temperatura entre 1 e 3°C e os restos de sangue do interior dos vasos sanguíneos dos pernis devem ser eliminados, através de pressão manual ou mecânica, de forma a evitar possíveis contaminações microbianas no decurso do processo.

A salga consiste na incorporação de cloreto de sódio (na presença ou não de sais nitrificantes), quer seja através do empilhamento dos pernis entre camadas de sal durante um período de tempo proporcional ao peso dos mesmos, quer mediante a aplicação de uma quantidade específica de sal em bombos de salga ou massajadoras. Esta etapa considera-se finalizada quando as perdas de peso se situam entre 3 e 7% do peso inicial e a quantidade de água perdida é da ordem dos 7 aos 10%. O sal actua como agente depressor da actividade de água e como agente bacteriostático contribuindo para a inibição de microrganismos, além de ser responsável por diversas mudanças relacionadas com as actividades proteolítica e lipolítica (Parolari, 1996; Coutron-Gambotti *et al.*, 1999).

Durante o repouso, lavam-se e escovam-se os pernis para eliminar o excesso de sal superficial. A finalidade desta etapa é a estabilização das peças, permitindo uma difusão homogénea do sal através dos diferentes músculos do pernil. A temperatura deve manter-se abaixo dos 5°C até que a actividade de água em todos os pontos do pernil seja inferior a 0,95, quando se considera o produto microbiologicamente estável (Leistner, 1985). A duração desta etapa pode variar entre 1 e 3 meses dependendo do tamanho da peça e da presença de gordura intra e intermuscular, que constitui uma barreira à difusão salina.

As características organolépticas do produto final desenvolver-se-ão durante a etapa de secagem ou maturação. Ao longo desta fase, as temperaturas sofrem um incremento progressivo desde uns 14°C iniciais até cerca de 28°C. A desidratação dos pernis ocorre por

migração da água desde o seu interior até à superfície, onde se evapora. A duração da secagem difere entre processos e o gradiente de temperatura ajusta-se em função da duração estipulada do processo. De um modo geral, de 6 a 12 meses para os processos denominados como “curtos” e de 18 a 24 meses para os “longos”. Os presuntos ibéricos, que possuem um elevado teor de gordura infiltrada, podem ser submetidos a processos de elaboração mais longos. No entanto, a velocidade de desidratação deve-se ajustar adequadamente de modo a evitar a formação de diferentes defeitos de elaboração, como o ressecamento superficial ou “crostas” dos músculos superficiais que ocorre quando a velocidade de desidratação é excessivamente rápida.

Adicionalmente, os presuntos ibéricos submetem-se a uma etapa final de envelhecimento em caves, enquanto o processo de elaboração dos presuntos de Bayonne (França) e Parma (Itália) incluem uma etapa de estufagem após o repouso, na qual as temperaturas do processo se elevam até 28 – 32°C durante um curto período de tempo. Este aumento de temperatura irá intensificar os processos proteolíticos e lipolíticos, em particular a acção das catepsinas e a autooxidação lipídica e, em consequência, induzir o desenvolvimento da cor, da textura e dos compostos responsáveis pelo flavor do presunto curado.

2.2. Matéria-prima - Critérios tecnológicos

A ausência de um conteúdo significativo de microrganismos nos presuntos durante a sua elaboração indica que, tanto as características de qualidade, como a presença de defeitos, são maioritariamente consequência das condições estabelecidas durante o processo. No entanto, a qualidade da matéria-prima também exerce uma notável influência sobre a qualidade do produto, nomeadamente no que se refere à origem genética, sexo e qualidade da carne.

A cinética do decréscimo do pH do músculo post-mortem é um dos factores que melhor explicam as variações de qualidade e aptidão tecnológica da carne suína. As reservas musculares de glicogénio no momento do sacrifício incidem sobre o valor de pH às 24 horas post-mortem (pH₂₄). Os músculos com um baixo potencial glicolítico apresentam uma acidificação débil após o sacrifício (pH₂₄ superior a 6,2 – 6,3) e originam carnes escuras, duras e secas, que se denominam carnes DFD (do inglês Dark, Firm e Dry). As carnes DFD são mais susceptíveis à deterioração microbiana dado o seu pH elevado, favorecem a aparição precoce de aromas desagradáveis e, devido à sua influência sobre a capacidade de retenção de água, não se consideram adequadas para o fabrico de produtos curados (Jacquet e Ollivier, 1971; Newton e Gill, 1981; Naveau, 1986; Le Roy *et al.*, 1990; Holmer *et al.*, 2009).

O potencial glicolítico muscular também está afectado pela presença do gene maior RN (RN- e rn+), do francês Rendement Napole, que se trata de um critério utilizado para estimar o rendimento tecnológico do fiambre (Naveau, 1986). A presença do alelo dominante RN- está relacionada com uma acidificação excessiva do músculo *post-mortem* (carnes ácidas) que, como consequência do claro incremento das taxas de glicogénio dos músculos brancos, alcançam valores de pH inferiores a 6 em menos de uma hora *post-mortem*. Os músculos brancos estão maioritariamente presentes na língua e nos pernis.

O gene RN identificou-se posteriormente como o gene PRKAG3 (Milan *et al.*, 2000), que codifica uma isoforma específica da subunidade γ (gamma-3) da proteína quinase dependente de adenosina monofosfato (AMPK), uma enzima envolvida na regulação do metabolismo energético celular (Hardie *et al.*, 1997). A substituição Arg200Gln relacionou-se com a mutação RN-, enquanto o polimorfismo Ile199Val manifesta a sua influência sobre o teor de carne magra das carcaças, o teor de glicogénio muscular, o pH24 da carne e a capacidade de retenção de água (Ciobanu *et al.*, 2001; Lindahl *et al.*, 2004a; Enfält *et al.*, 2006).

Um rápido decréscimo do pH muscular (valores anormalmente baixos de pH medidos entre 45 e 60 minutos após o sangrado) enquanto a temperatura das carcaças permanece elevada conduz, geralmente, à formação de carnes pálidas, moles e exsudativas (PSE, do inglês Pale, Soft e Exudative). O desenvolvimento da condição PSE relacionou-se tradicionalmente com a sensibilidade dos animais ao gene do halotano (HAL), que posteriormente se identificou como o gene receptor da rianodina (RYR), implicado no transporte de iões cálcio do músculo estriado.

A raça exerce uma elevada influência sobre a qualidade da matéria-prima. Em geral, as raças Landrace europeias e Large White permitem a produção de carnes com uma melhor qualidade tecnológica. A presença do gene RN- observou-se maioritariamente na raça suína Hampshire (Sellier, 1982; Monin e Sellier, 1985), enquanto a substituição Ile199Val se detectou em diversas raças. (Ciobanu *et al.*, 2001; Josell *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2004; Lindahl *et al.*, 2004a,b; Stalder *et al.*, 2005; Otto *et al.*, 2007; Ramos *et al.*, 2008).

As raças com maior desenvolvimento muscular como a Piétrain e a Landrace Belga apresentam uma tendência superior para produzir carnes PSE. Os presuntos procedentes de animais sensíveis ao halotano apresentam um peso superior e uma ligeira diminuição do rendimento tecnológico dos presuntos curados (Sellier *et al.*, 1985; Santoro e Lo Fiego, 1987; Fernandez *et al.*, 2002) e, de acordo com alguns autores (Nanni, 1996), uma maior incidência de defeitos. As raças mais rústicas como a de porco Ibérico e Duroc têm uma menor

incidência deste tipo de carnes e permitem processos tecnológicos de duração mais larga devido ao seu teor de gordura intra e intermuscular mais elevado.

A maior parte das características de qualidade da carne transmitem-se de forma aditiva, embora se observem evidentes efeitos de heterose na velocidade de descida do pH post-mortem e na condição PSE em cruzamentos que utilizam a raça Piétrain, e sobre o pH24 e as características de qualidade associadas nos cruzamentos que envolvem a raça Hampshire (Sellier e Monin, 1994).

O peso dos presuntos incide na sua composição físico-química (Gallo *et al.*, 1994; Lo Fiego *et al.*, 2005; Cilla *et al.*, 2006; García-Rey *et al.*, 2006), no marmoreado e composição da gordura infiltrada, condicionando a distribuição de sal nas peças (Coutron-Gambotti *et al.*, 1999; Andres *et al.*, 2005), e no desenvolvimento e duração do processo. O teor e composição lipídica dos músculos e da gordura subcutânea dependem das condições estabelecidas nos sistemas de produção, principalmente do genótipo e da alimentação (revisto em Gandemer, 2002; Lebret *et al.*, 2002; Carrapiso *et al.*, 2003; Petrón *et al.*, 2004; Carrapiso e García, 2005). Os presuntos de menor conformação apresentam desvios das características sensoriais típicas do presunto curado tradicional uma vez que os teores de gordura baixos condicionam tempos de elaboração mais curtos (Arnau *et al.*, 1992), enquanto a produção a partir de carcaças de animais com um peso e teor de gordura elevados, menos valorizadas comercialmente, pode dar origem a uma melhora na qualidade sensorial do presunto curado (Steane, 1986). No entanto, embora um certo teor de gordura seja uma característica desejável, uma composição inadequada de gordura pode influenciar a estabilidade oxidativa dos presuntos, incidindo negativamente sobre os mecanismos de oxidação que se desenvolvem durante o processo de elaboração.

O pH e o peso dos presuntos são parâmetros que influenciam a qualidade do presunto curado. O pH varia consideravelmente entre músculos (Arnau *et al.*, 1995) e afecta significativamente a maturação dos presuntos (Guerrero *et al.*, 1999; Tabilo *et al.*, 1999; Schivazappa *et al.*, 2002; García-Rey *et al.*, 2004; Ruiz-Ramírez *et al.*, 2005 e 2006). Não se conhecem exactamente as causas que determinam a influência do pH sobre a qualidade do presunto curado uma vez que o intervalo de pH da carne de qualidade dita “normal” (pH 5,6 – 6,2) não parece ser suficiente para assumir uma grande repercussão no controlo da actividade das enzimas proteolíticas endógenas da carne. No entanto, relacionou-se o pH com a actividade catpsínica e as diminuições de peso pós-salga (Schivazappa *et al.*, 2002) à aparição de presuntos com textura defeituosa, associada a uma intensa proteólise.

Os valores extremos de pH da carne e o teor de sal dos presuntos favorecem a aparição de defeitos de qualidade, embora não sejam os únicos factores que intervêm e, *a priori*, é difícil estabelecer a incidência e distribuição de presuntos defeituosos que possa ocorrer numa população suína. Inicialmente, a selecção de presuntos com valores diferenciados de pH no músculo semimembranosus às 24h post-mortem (pH_{24SM}) e de espessura mínima de gordura (EMG) representa um modelo adequado para o estudo das causas e factores maioritariamente responsáveis pela variabilidade da matéria-prima.

2.3. Estrutura e metabolismo muscular

As proteínas musculares classificam-se, atendendo à sua funcionalidade, em proteínas miofibrilares, sarcoplasmáticas e proteínas do tecido conjuntivo ou do estroma. As proteínas miofibrilares são solúveis em soluções salinas concentradas e constituem entre 50 a 60% do teor proteico total. As proteínas sarcoplasmáticas representam um 30 – 35% das proteínas musculares e são solúveis em água e em soluções salinas diluídas; e, por sua vez, as proteínas do tecido conjuntivo ou do estroma são relativamente insolúveis e menos abundantes (Pearson e Young, 1989; Kauffman, 2001).

As proteínas sarcoplasmáticas constituem um grupo de proteínas bastante diverso que inclui a maior parte das enzimas envolvidas no metabolismo celular, com diferentes funções como a síntese e degradação proteica, oxidação de ácidos gordos, transporte de electrões e fosforilação oxidativa, glicólise e gliconeogénese.

O sal exerce uma importante influência sobre a estrutura e a solubilidade das proteínas musculares e a actividade das enzimas endógenas da carne. A localização celular das proteínas musculares varia de acordo com solubilidade que apresentam as concentrações salinas originadas durante o processo de elaboração do presunto curado e passam por uma intensa degradação por acção das enzimas proteolíticas endógenas, como as calpaínas e catepsinas.

As calpaínas são enzimas que requerem iões de cálcio para o desenvolvimento da sua actividade e integram um sistema proteolítico constituído por duas isoformas (calpaínas I e II) e um inibidor específico, a calpastatina (Croall e De Martino, 1991; Melloni *et al.*, 1992; Goll *et al.*, 2003). No músculo post-mortem a sua actividade está limitada pelo pH e temperatura que se desenvolvem na carne (pH 5,5 – 5,8 e 5°C), embora a descida do pH post-mortem reduza a capacidade de inibição das calpastatinas e favoreça a actividade calpaínica. As catepsinas são proteases lisossomais com um pH óptimo de actuação ácido e a sua actividade está regulada pela acção de inibidores fisiológicos, as cistatinas. As catepsinas que

apresentam uma actividade mais elevada no músculo esquelético são a catepsina D (aspartato-proteinase) e as catepsinas B, L e H (cisteíno-proteinases) (Goll *et al.*, 1983; Barret, 1987; Russo *et al.*, 2000; Sturaro *et al.*, 2008).

A actividade calpaínica foi detectada em presunto fresco, diminui significativamente durante a etapa de salga (Hortós *et al.*, 1994) e desaparece rapidamente na etapa de secagem. O desaparecimento da actividade calpaínica pode dever-se à sua instabilidade, especialmente da calpaína I (Dransfield, 1992). A actividade das catepsinas B, L e H foi detectada em presuntos com uma etapa de secagem de 8 meses, enquanto a actividade da catepsina D praticamente desapareceu entre os 6 e os 10 meses do processo (Rico *et al.*, 1991; Toldrá *et al.*, 1993). Também se observou um acentuado decréscimo da catepsina D durante a salga em músculos SM e BF de presuntos com uma maturação de 12 meses (Sárraga *et al.*, 1993).

Diversos parâmetros são utilizados para avaliar o conjunto de modificações que experimentam as proteínas musculares durante a elaboração do presunto curado. A determinação do teor de azoto solúvel é um indicador do conteúdo em moléculas azotadas solúveis em soluções de força iónica baixa, que inclui as proteínas solúveis no meio e fracções azotadas de baixo peso molecular (PM). O teor de azoto não proteico (NNP) avalia a composição em compostos azotados de baixo peso molecular, que está constituída pelos produtos derivados da degradação de proteínas (maioritariamente péptidos, aminoácidos, e aminas) e ácidos nucleicos (nucleótidos e nucleósidos). O teor de azoto básico volátil é um indicador dos compostos azotados de características voláteis.

Os lípidos são elementos essenciais das membranas celulares do tecido muscular e constituem o componente maioritário do tecido adiposo, que no presunto se dispõem sob a pele (gordura subcutânea), entre os músculos (gordura intermuscular) e entre os fascículos de fibras musculares (gordura infiltrada ou marmoreado). De acordo com a sua polaridade, distinguem-se entre lípidos neutros, os que não possuem carga iónica na sua estrutura e são solúveis em solventes orgânicos, e lípidos polares, que podem apresentar carga iónica e são solúveis em solventes polares.

A composição lipídica do músculo suíno depende do seu conteúdo em gordura infiltrada, maioritariamente constituída por triglicéridos, diglicéridos e monoglicéridos (lípidos neutros). A proporção de triglicéridos no músculo varia entre 50 e 68% (Leseigneur-Meynier e Gandemer, 1991) e é influenciada por factores como a raça e o peso dos animais ou a alimentação. Os fosfolípidos (polares) das membranas celulares representam entre 16 e 34% dos lípidos totais no músculo (Flores e Nieto, 1985).

A estrutura dos lípidos musculares varia durante a maturação dos presuntos através de processos lipolíticos e oxidativos. A lipólise ocorre através da acção das enzimas lipases (ácida e neutra) e fosfolipases (A1, A2, C e D), que provocam a liberação de diglicerídeos, monoglicerídeos e ácidos gordos. A formação de ácidos gordos considera-se uma consequência da acção da lipase ácida lisossomal, que tem um pH óptimo de actuação (4,5-5,5) próximo ao dos valores observados em carne e permanece activa na presença de sal e a uma baixa A_w (Motilva *et al.*, 1993), enquanto as fosfolipases A1 e A2 catalisam a hidrólise dos fosfolípidos (Motilva *et al.*, 1993; Muriel *et al.*, 2005; Gandemer, 2009). A actividade da lipase ácida difere entre raças e de acordo com o tipo metabólico muscular, sendo superior em porcos procedentes da raça Ibérica e cruzamentos derivados (Cava *et al.*, 2002; Hernández *et al.*, 2004) e em músculos oxidativos (Alasnier e Gandemer, 2000), mas é similar entre músculos frescos do mesmo tipo metabólico, como o SM e o BF (Vestergaard *et al.*, 2000). Em extractos de músculos de presunto, as actividades lipolíticas são descritas como actividade da lipase ácida e neutra. Em presunto de Parma, Vestergaard *et al.* (2000) relacionaram a formação de ácidos gordos livres em diferentes etapas do processo com as actividades das lipases ácida e neutra dos músculos SM e BF. A actividade das restantes enzimas lipolíticas considera-se menos significativa. O teor de ácidos gordos livres e o índice de acidez são as medidas geralmente utilizadas para avaliar a intensidade dos processos lipolíticos.

A autooxidação e a oxidação enzimática são as principais vias implicadas na oxidação lipídica. A autooxidação considera as etapas de iniciação, propagação e finalização. Na primeira etapa formam-se radicais livres por acção de catalisadores como o oxigénio, a temperatura, a luz ou determinados metais. Os fosfolípidos dada a sua elevada composição em ácidos gordos polinsaturados e a sua localização nas membranas celulares, próximos à cadeia de transporte de electrões, são os principais substratos da autooxidação lipídica. Os radicais livres formados reagem posteriormente com o oxigénio molecular durante a etapa de propagação, dando lugar à formação de hidroperóxidos que são compostos instáveis e bastante reactivos. A decomposição dos hidroperóxidos conduz à formação de uma ampla variedade de produtos secundários como aldeídos, cetonas, álcoois e lactonas, que têm uma ampla repercussão no flavor do presunto curado. A formação de compostos secundários da oxidação avalia-se geralmente através da reacção com o ácido tiobarbitúrico (teste do TBA).

A oxidação enzimática ocorre por acção de lipoxigenases que actuam sobre determinados ácidos gordos polinsaturados com produção de hidroperóxidos semelhantes aos da autooxidação. No entanto, as exigências a nível de substratos e a especificidade de actuação

destas enzimas remetem para segundo plano a acção deste processo na oxidação lipídica (Nawar, 1998).

2.4. Qualidade sensorial

A influência que as condições do processo de produção exercem sobre as propriedades das proteínas e lípidos tem uma elevada repercussão na qualidade sensorial do presunto curado. Os processos proteolíticos e lipolíticos conduzem à formação das substâncias responsáveis pelas características organolépticas do presunto curado, como o aroma e sabor, o aspecto e a textura.

A textura é a manifestação sensorial e funcional das propriedades superficiais, estruturais e mecânicas de um alimento, detectadas através da percepção visual, auditiva, tátil e cinestética (Szczeniak, 2002). A textura da carne é uma das características sensoriais mais decisivas na apreciação por parte do consumidor e depende de factores relacionados com a matéria-prima (origem genética, teor de gordura intramuscular) e os processos bioquímicos envolvidos na sua transformação. Durante a elaboração de presunto curado os diferentes processos proteolíticos conduzem à conversão da carne num produto de textura homogénea, pouco fibrosa e sem pastosidade. A adesividade e a pastosidade são os principais defeitos de textura do presunto curado que condicionam, não apenas a aceitação por parte do consumidor, senão também o desenvolvimento do processo tecnológico. Estes defeitos estão associados a uma elevada actividade proteolítica, à presença de gordura intramuscular que dificulta as etapas de salga e secagem, a uma baixa relação sal/água (Parolari *et al.*, 1994; Virgili *et al.*, 1995; Conti *et al.*, 1997; Schivazappa *et al.*, 1998; Ruiz-Carrascal *et al.*, 2000), temperaturas elevadas nos últimos meses do processo (Arnau *et al.*, 1997) e valores elevados de pH24 (Guerrero *et al.*, 1999; Morales *et al.*, 2007).

O aspecto visual do presunto é determinado inicialmente pela cor, que depende da concentração e grau de oxidação da mioglobina muscular. Os pigmentos derivados da mioglobina apresentam uma coloração diferente dependendo do seu grau de oxidação, a oximioglobina de cor vermelha, a mioglobina no seu estado reduzido de cor púrpura e a metamioglobina de cor acastanhada. O principal defeito visual do presunto curado é a formação superficial de precipitados, seja em pequenos cristais ou em forma de uma película branca, maioritariamente constituídos por tirosina e, em menor grau, por fenilalanina (Butz *et al.*, 1974; Arnau *et al.*, 1996). A formação destes precipitados relacionou-se com um elevado grau de proteólise provocado por uma maior actividade das enzimas musculares

responsáveis pela formação de aminoácidos, em conjunto com a formação de condições de força iónica que não favorecem a solubilidade da tirosina (Arnau e Monfort, 1998).

O desenvolvimento do aroma do presunto curado está relacionado com a produção de compostos voláteis, como ésteres, álcoois, cetonas, hidrocarbonetos e ácidos gordos de cadeia curta. Estes compostos resultam de produtos de degradação lipídica ou da sua reacção com produtos de degradação de compostos azotados (péptidos, aminoácidos e nucleótidos). Os ésteres provêm da interacção entre álcoois e ácidos carboxílicos e estão associados a aromas frutais, tanto em carne de porco, como em presunto curado. Os aldeídos formam-se por oxidação dos lípidos e provêm dos ácidos gordos insaturados. Os aldeídos maioritariamente observados em presunto curado são o hexanal, heptanal, octanal e nonanal, que procedem da degradação dos ácidos gordos: oleico, linoleico, linolénico e araquidónico, respectivamente (Antequera *et al.*, 1992; Lopez *et al.*, 1992; Díaz, 1994). Os descritores sensoriais associados aos aldeídos são verde, gordura e cítrico (Forss, 1972; Mottram, 1998) e o aroma curado está associado à presença de aldeídos ramificados com grupos metilo, álcoois secundários, metil-cetonas, etil ésteres e dimetil trissulfuro (Hansen-Moller *et al.*, 1997; Carrapiso *et al.*, 2002). No entanto, o hexanal considera-se o principal responsável do aroma a ranço de presuntos oxidados. As cetonas formam-se por oxidação lipídica e são-lhes atribuídas notações sensoriais de manteiga ou queijo. Os álcoois provêm da decomposição de hidroperóxidos ou redução de aldeídos. Na carne de porco, os álcoois de cadeia linear produzem notas verdes, madeira, gordura, florais e considera-se que têm uma contribuição importante no aroma do presunto (Shahidi *et al.*, 1986; Barbieri *et al.*, 1992). Os hidrocarbonetos aromáticos procedem da oxidação directa de ácidos gordos. No presunto Serrano, ao m- e p-xileno atribui-se-lhes um aroma descrito como fumado fenólico e ao o-xileno um aroma caramelo-frutal (Flores *et al.*, 1997). Os ácidos gordos de cadeia curta têm origem na fermentação de açúcares, aminoácidos ou oxidação de aldeídos e o seu aroma é semelhante ao de alguns queijos.

Os compostos voláteis também podem ser gerados a partir da reacção de *Maillard*, mediante a reacção de um grupo amino com um grupo carbonilo, associada a diferentes reacções secundárias. A degradação de *Strecker*, que é uma das múltiplas reacções pertencentes a este grupo, induz a formação de um aldeído a partir da desaminação e descarboxilação de um α -aminoácido na presença de um elemento dicarbonilo. Os compostos voláteis com enxofre formam-se a partir de aminoácidos com enxofre na sua composição como a cisteína, a cistina e a metionina (Shahidi *et al.*, 1986). Os compostos derivados de aminoácidos como o 2-metil-butanal, 3-metil-butanal e 2-metil-propanal proporcionam uma importante contribuição para o aroma do presunto curado (Hirinchsen e Pedersen, 1995).

O sabor do presunto curado tem origem na presença de compostos resultantes da proteólise. Ao longo da etapa de maturação ocorre um incremento do teor de péptidos e aminoácidos livres (Córdoba *et al.*, 1994; Hortós, 1995; Martín *et al.*, 2001; Larrea *et al.*, 2006) que se irá repercutir no sabor global do produto dependendo da concentração de cada um deles. Deste modo, a presença do sabor amargo resulta de um predomínio de dipéptidos (carnosina, anserina) ou de aminoácidos aromáticos (tirosina, triptofano, fenilalanina). O sabor doce encontra-se associado à alanina, treonina, prolina, hidroxiprolina, serina e glicina, enquanto a valina e a metionina se relacionam com um sabor amargo-doce. A asparagina e a histidina conferem um sabor ácido, tal como os ácidos aspártico e glutâmico, embora os seus sais sódicos também aportem um sabor salgado (Schallenberger, 1993). A contribuição dos péptidos para o sabor característico do presunto depende da sua composição em aminoácidos. Por outro lado, o sabor e a sua intensidade também estão relacionados com a sequência ou posição dos aminoácidos na cadeia peptídica. Enquanto Phe-Pro e Gly-Phe-Pro apresentam um sabor amargo superior a Pro-Phe e Phe-Pro-Gly, respectivamente (Nishimura e Kato, 1988), os péptidos com um resíduo Phe ou Tyr na sua extremidade C-terminal estão relacionados com um forte sabor amargo (Otagiri *et al.*, 1985; Ishibashi *et al.*, 1987).

3. Material e métodos

Neste trabalho avaliou-se a influência dos critérios tecnológicos, considerados na selecção da matéria-prima, sobre os processos proteolíticos, lipolíticos e oxidativos desenvolvidos nos músculos *semimembranosus* (SM), *bíceps femoris* (BF) e *quadriceps femoris* (QF) de presuntos curados. Os presuntos foram elaborados em Segóvia na empresa *Jamones Montenevado S.A.* a partir de animais provenientes de um cruzamento (Du x LW x L) x Du desenvolvido pela empresa *PIC España S.A.*, que se seleccionaram geneticamente para o gene do halotano (HAL), evitando a influência da presença de carnes PSE. Os animais foram produzidos na quinta *Turolense Ganadera S.A.* e abatidos no matadouro *Agroalimentaria Teruel S.A.*, tendo sido tomadas na sala de desmancha as medidas relativas a: peso da carcaça imediatamente após o abate, peso da carcaça em frio, peso do presunto, mm de espessura de gordura (EG) com o auxílio de uma régua, pH no músculo *semimembranosus* às 24 horas *post-mortem* (pH_{24SM}) com um eléctrodo de perfuração, sexo do animal e avaliação visual do marmoreado intramuscular. No caso do marmoreado intramuscular foram considerados cinco níveis: 1=não visível; 2=ligeiramente visível; 3=visível; 4=muito visível; 5 altamente visível. A amostra da população utilizada foi seleccionada com base nos valores extremos de pH_{24SM} e EG obtidos, de acordo com a distribuição dos valores da população de estudo. O número de carcaças avaliadas e de pernis seleccionados por abate encontra-se detalhado na Tabela 1.

Tabela 1 - Número de animais e pernis seleccionados por abate

Abate	Carcaças	Pernis
1	184	11
2	191	11
3	159	11
4	66	35
5	202	14
6	102	40
7	119	79
N	102	64

Os presuntos seleccionados elaboraram-se com um baixo teor de sal (0,7 dias/Kg) para facilitar a presença de defeitos associados às características da matéria-prima e o processo de cura desenvolveu-se com perdas de peso constantes, atingidas entre os 18 e os 24 meses de cura, de forma a limitar a influência da duração do processo sobre a evolução das peças. As metodologias utilizadas na avaliação dos presuntos foram aplicadas a uma amostra de 66 presuntos seleccionados, que representam cerca de 10% da população (N=647). As análises dos músculos efectuaram-se na zona situada perto do osso central, de acordo com um procedimento previamente estipulado (Figura 1).

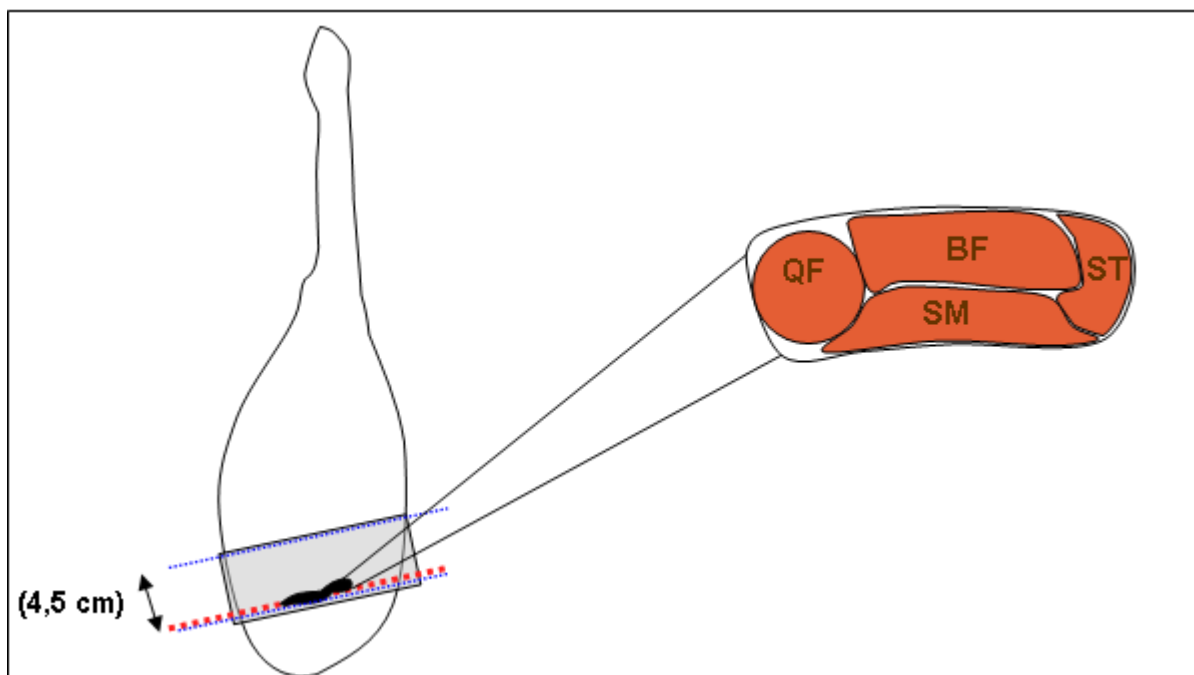


Figura 1 - Representação esquemática da dissecção dos músculos *biceps femoris* (BF), *quadriceps femoris* (QF), *semimembranosus* (SM) e *semitendinosus* (ST) durante o procedimento de amostragem.

3.1. Composição físico-química

A determinação da composição físico-química efectuou-se através de espectroscopia de infravermelho próximo (NIR), de acordo com o método AOAC 2007-04 (Official Methods of Analysis, 2007), num FoodScanTMLab previamente calibrado para amostras de presunto curado.

Os valores dos teores de humidade, de gordura, de proteína e de sal (cloretos) foram determinados em simultâneo. Para tal, homogeneizou-se uma quantidade suficiente de amostra com uma picadora doméstica e preencheu-se por completo uma placa de vidro de 14 cm de diâmetro e 1,75 cm de altura, colocando-a no aparelho para efectuar a leitura.

3.2. Índice do ácido tiobarbitúrico

A oxidação lipídica em produtos cárneos é comumente determinada através do método do ácido tiobarbitúrico (TBA). Este método quantifica as substâncias que reagem ao TBA formadas pela decomposição de produtos da peroxidação lipídica, como o malonaldeído

(MDA). A execução deste método efectuou-se mediante fluxo contínuo segmentado numa unidade ALLIANCE Futura a 531 nm.

Para esta determinação prepararam-se as seguintes soluções:

1. **solução ácida** a partir de 200 mL de ácido clorídrico a 37%, 2 g de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e 10 mL de propyl gallate a 20%, perfazendo até 1 L com água desionizada;
2. **solução stock de MDA** a partir de 173 µL de 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) perfazendo até 1 L com água desionizada;
3. **solução de trabalho de MDA** a partir da dissolução de 1 mL da solução anterior em 12,5 mL de solução ácida e perfazendo até 25 mL com água desionizada;
4. **solução de TBA** a partir de 3,27 g de ácido, 100 mL de ácido clorídrico a 37% e 20 mL de polyoxyethylene lauryl ether (Brij-35) a 25% e perfazendo até 1 L com água desionizada.

Pesaram-se 2 g de cada amostra em tubos de centrífuga de 50 mL e adicionaram-se 10 mL de água desionizada, procedendo-se de seguida à homogeneização dos extractos. Adicionaram-se 10 mL de solução ácida, agitaram-se e colocaram-se os extractos em refrigeração a 4 °C durante 1h. Posteriormente, centrifugaram-se a 10.000rpm e 4 °C durante 15 minutos e recolheram-se os sobrenadantes através de filtração sob lâ de vidro. Paralelamente preparou-se uma curva de calibração a partir da solução de trabalho de MDA no intervalo de concentrações de 0,05 a 1,00 ng/µL e efectuaram-se as leituras em fluxo contínuo segmentado. Os resultados calcularam-se com base na calibração prévia com a recta padrão e expressaram-se em ppm de MDA, tal como se descreve na equação:

$$ppm\ MDA = \frac{C \times V}{p}$$

Em que:

V – volume do extracto, expresso em mililitros;

p – peso da amostra utilizada, expresso em gramas;

C – concentração de MDA obtida a partir curva de calibração, expressa em ppm:

$$C = m \times Abs + b$$

Em que:

m – declive da recta;

Abs – absorvância do extracto a 531 nm;

b – ordenada na origem.

3.3. Índice de acidez

Uma das principais causas de deterioração que afectam a qualidade da carne e dos produtos cárneos é a oxidação lipídica. Este fenómeno provoca a libertação de ácidos gordos livres e o seu teor avalia-se através da determinação do índice de acidez.

Pesaram-se 3 g de amostra em tubos de 50 mL aos quais se adicionaram 20 mL de uma solução de etanol: acetato de etilo na proporção de 1:5 e homogeneizaram-se com ultraturrax. Agitaram-se os extractos e mantiveram-se em repouso durante 30 minutos. Seguidamente, filtraram-se sob filtros de pregas de 150 mm de diâmetro e os filtrados foram recolhidos em Erlenmeyer de 250 mL. A determinação do índice de acidez realizou-se através de titulação com uma solução etanólica de hidróxido de potássio [0,1N] na presença de fenolftaleína como indicador e os resultados expressaram-se em % de ácido oleico, de acordo com a equação:

$$\begin{aligned} \% \text{ Ácido Oleico} &= \frac{V}{p} \times \frac{C \text{ mEq KOH}}{1\text{mL}} \times \frac{1\text{mEq } \acute{\text{a}}\text{c. Oleico}}{1\text{mEq KOH}} \times \frac{M}{1\text{mEq } \acute{\text{a}}\text{c. Oleico}} \times \frac{1\text{g}}{1000\text{mg}} \times 100 \\ &= \\ &= \frac{V \times C \times M}{10 \times p} \end{aligned}$$

Em que:

V – volume de KOH gasto, expresso em mililitros;

C – concentração de KOH, expressa em normalidade;

M – peso molecular do ácido oleico;

p – peso da amostra utilizada, expresso em gramas.

3.4. Composição de ácidos gordos totais

A composição de ácidos gordos totais do tecido muscular determinou-se a partir de duas extracções sucessivas, ambas recorrendo a misturas de dissolventes comumente utilizados em extracções lipídicas. A primeira efectuou-se com uma solução de etanol e acetato de etilo e a segunda com uma solução de clorofórmio e metanol, de acordo com o método de Folch *et al.* (1957). Procedeu-se à saponificação em meio básico, seguida de metilação, de acordo com a norma ISO 5509. Os ácidos gordos metilados separaram-se por cromatografia gasosa (GC) num equipamento Agilent 6890N com detecção por ionização de chama (FID) numa coluna de cianopropilpolisiloxano (SGE BP 70) de 30 m x 0,25 mm e espessura de fase de 0,25 µm.

Pesaram-se 2,5 g de amostra aos quais se adicionaram 2 mL de padrão interno (TRI-15, [2mg/mL]), 25 mL de etanol: acetato de etilo na proporção de 1:5 (v/v) e homogeneizaram-se com ultraturrax. Deixaram-se repousar 30 minutos e centrifugaram-se a 10.000rpm e 4 °C durante 15 minutos. Filtram-se os extractos sob filtros de pregas de 150mm de diâmetro, reservando-se o sobrenadante num Erlenmeyer. Com o pellet realizou-se uma segunda extracção com 25 mL de clorofórmio: metanol na proporção de 2:1 (v/v) e filtrou-se do mesmo modo. Juntou-se o resultado das duas extracções num mesmo Erlenmeyer e evaporou-se em rotavapor até estar completamente seco. De seguida, redissolveu-se este extracto seco com uma solução de clorofórmio: terbutylmetyl éter na proporção de 1:1 (v/v) de forma a obter uma concentração final de 30 mg/ml. Pipetou-se uma alíquota de 500 µL, que se saponificaram com 2 mL de uma solução etanólica de hidróxido de sódio [1N] e se metilaram com 2 mL de trifluoroborometanol a 14%. Agitaram-se e mantiveram-se a 100 °C durante 60 minutos, deixando arrefecer à temperatura ambiente. Adicionaram-se 2 mL de hexano e quando se observou a separação de fases recolheu-se o sobrenadante com uma pipeta de Pasteur e filtrou-se com seringa e filtro de 0,22 µm para proceder à injeção.

A resposta experimental dos ácidos gordos num detector por ionização de chama é similar e cumpre a relação:

$$\frac{mg_{AG}}{mg_{IS}} = f \times \frac{Area_{AG}}{Area_{IS}}$$

O conteúdo em ácidos gordos totais dos extractos será dado pela fórmula:

$$\left(\frac{g}{100g}\right)_{AG} = \left[f \times \frac{Area_{AG}}{Area_{IS}} \times mg_{IS} \right] \times \frac{100}{p} \times \frac{1g}{1000mg}$$

Em que:

V_0 – volume de hexano, expresso em mililitros;

V_A – volume da alíquota derivatizada, expresso em mililitros;

V_E – volume de extracto, expresso em mililitros;

p – peso da amostra utilizada, expresso em gramas;

AG – massa de ácido gordo, expressa em microgramas por cada 100 g;

IS – massa de padrão interno adicionada, expressa em micorgramas.

3.5. Teor em azoto não proteico

A determinação do teor de azoto não proteico realizou-se de acordo com o método de *Kjeldahl*, mediante digestão da amostra na presença de ácido sulfúrico concentrado, utilizando como catalisador uma mistura de sulfato de potássio, sulfato de cobre e selénio. O sulfato de amónio formado é então destilado com hidróxido de sódio, convertendo-se em amónio, que irá ser recolhido numa solução de ácido bórico e seguidamente titulado com ácido clorídrico.

Pesaram-se 3 g de amostra em tubos de centrífuga de 50 mL aos quais se adicionaram 30 mL de uma solução de ácido clorídrico [1,2 N]. Homogeneizaram-se os extractos com um ultraturrax, agitaram-se e mantiveram-se em refrigeração a 4 °C durante 60 minutos. Centrifugaram-se a 12.000rpm durante 30 minutos e recolheram-se os sobrenadantes filtrados sob lâ de vidro. Pipetram-se 10 mL do extracto filtrado num tubo de digestão, aos quais se adicionaram 25 mL de ácido sulfúrico a 98%, catalisador em quantidade suficiente e procedeu-se à digestão numa unidade Büchi K-435. Deixaram-se arrefecer à temperatura ambiente e procedeu-se à destilação numa unidade Büchi B-414 seguida de titulação automática com um dispositivo Metrohm 702 SM Titrino. Os resultados calcularam-se a partir do valor de azoto obtido em função do volume de extracto digerido, considerando que 1 mg de azoto corresponde a 6,25 mg de proteína, de acordo com a equação:

$$\% \text{ Proteína} = \frac{V}{p} \times \frac{C \text{ mEq HCl}}{1\text{mL}} \times \frac{1\text{mEq NH}_4\text{OH}}{1\text{mEq HCl}} \times \frac{14\text{mg N}}{1\text{mEq NH}_4\text{OH}} \times \frac{6.25\text{mg Proteína}}{1\text{mg N}} \times \frac{V_E}{V_D} \times \frac{1\text{g Proteína}}{1000\text{mg Proteína}} \times 100 = \frac{V \times C \times 14 \times 6,25 \times V_E}{p \times V_D \times 10}$$

Em que:

V – volume de HCl gasto, expresso em mililitros;

C – concentração de HCl, expressa em normalidade;

V_E – volume de extracto, expresso em mililitros;

V_D – volume do extracto digerido, expresso em mililitros.

p – peso da amostra utilizada, expresso em gramas.

3.6. Perfil de aminoácidos livres

O perfil de aminoácidos dos músculos em estudo obteve-se mediante cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) num equipamento Agilent 1100 equipado com detector de díodos e detector de fluorescência. A separação realizou-se numa coluna Zorbax Eclipse AAA de 4,6 mm de diâmetro, 150 mm de comprimento e porosidade de 3,5 μm , através de um gradiente de 2% a 70% de uma solução tampão de fosfato de sódio [40 mM] e pH=7,8 (fase A) contra uma solução de acetonitrilo: metanol: água na proporção 45:45:10 (v/v/v) (fase B), em 70 minutos a 35 °C. Os derivados o-Phthalaldehyde (OPA) e 9-Fluorenylmethoxycarbonyl chloride (FMOC) dos aminoácidos detectaram-se, simultaneamente, a 338 nm e 262 nm através do detector de díodos e utilizando um comprimento de onda de excitação de 340 nm e de emissão de 450 nm através do detector de fluorescência durante os primeiros 58 minutos e de excitação de 266 nm e emissão de 305 nm posteriormente. A derivatização dos aminoácidos realizou-se em rede através da programação da sequência do injector automático após a adição da solução de padrões internos.

Pesaram-se 2,5 g de amostra em tubos com tampa de rosca, aos quais se adicionaram 15 mL de uma solução de ácido clorídrico [1,8N] e homogeneizaram-se com ultraturrax. Mantiveram-se os extractos em agitação durante 60 minutos, ao fim dos quais se transferiu todo o conteúdo do tubo a um balão volumétrico com a capacidade de 25 mL e levou-se a

volume. Filtraram-se os extractos sob lâ de vidro e pipetaram-se 100 µL do sobrenadante para proceder à sua evaporação com azoto. Redissolveram-se os extractos secos com uma solução de ácido clorídrico [0,3 N] e adicionou-se uma solução de L-Norvalina [0,5 nmol/µL] e Sarcosina [0,25nmol/µL] como padrões internos. Filtraram-se com seringa e filtros de 0,22 µm e procedeu-se à sua injeção num sistema HPLC. O factor de resposta de cada aminoácido calculou-se a partir de uma curva de calibração preparada a partir de soluções *standard* no intervalo de concentrações de 0,1 a 1 nmol/µL frente à solução de padrões internos, de acordo com a equação:

$$y = m \cdot x + b$$

Em que:

m – factor de resposta;

b – ordenada na origem.

Os valores experimentais obtiveram-se substituindo os valores das ordenadas pela relação entre as massas e os valores das abcissas pela relação entre as áreas:

$$\frac{\mu g_{Aa}}{\mu g_{IS}} = m \times \frac{Area_{Aa}}{Area_{IS}} + b$$

O conteúdo em aminoácidos das amostras calculou-se a partir das curvas obtidas experimentalmente, isolando da fórmula anterior:

$$mg_{Aa}/g = \left[\frac{\left(m \times \frac{Área_{Aa}}{Área_{IS}} + b \right) \times \mu g_{IS}}{V_A} \right] \times \frac{V_E}{p} \times \frac{1000 \mu L}{1 mL} \times \frac{1 mg}{1000 \mu g}$$

Em que:

Aa – massa de aminoácido, em microgramas;

m – factor de resposta obtido experimentalmente;

b – ordenada na origem obtida experimentalmente;

V_A – volume de alíquota, expresso em microlitros;

IS - massa de padrão interno adicionada ao extracto, em microgramas;

V_E – volume do extracto, expresso em mililitros;

p – peso da amostra utilizada, expresso em gramas.

3.7. Análise estatístico dos resultados

Os resultados avaliaram-se estatisticamente através do procedimento General Linear Model (GLM) do programa estatístico JMP8 (2009, SAS Institute Inc., Cary, NC). O modelo estatístico considerou os efeitos do $pH_{24}SM$, espessura de gordura, sexo e conteúdo salino, bem como as interações correspondentes, que se eliminaram do modelo por não serem significativas ($p \leq 0,001$).

4. Resultados e discussão

4.1. Características da população em estudo

As carcaças avaliadas apresentaram um peso médio de $98,86 \pm 7,66$ Kg após o abate e de $96,88 \pm 7,51$ Kg em frio. A espessura de gordura média ao nível do músculo *gluteus medium* (GM) foi de $18,45 \pm 3,90$ mm e o valor de pH às 24 horas *post-mortem* de $5,60 \pm 0,21$. Os pesos das carcaças após o abate e em frio correlacionaram-se significativamente com o peso dos pernis ($0,74$; $p \leq 0,001$).

Tabela 2 - Valores médios e extremos dos pernis da população em estudo (N=647)

	<i>Média</i>	<i>dp</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
Pernis (Kg)	13,09	1,00	10,1	15,80
EG (mm)	18,45	3,90	8,0	32,0
pH ₂₄ SM	5,59	0,21	5,13	6,78

Os pernis da população em estudo registaram um peso médio de $13,09 \pm 1,00$ Kg, a espessura de gordura ao nível do músculo GM oscilou entre 8 e 32 mm e os valores de pH₂₄SM situaram-se num intervalo de 5,13 a 6,78 (Tabela 2). Na Figura 2 encontra-se representado o resultado da análise de componentes principais para os diferentes pesos da matéria-prima. A projecção das variáveis nos dois sistemas de eixos seleccionados explica 78,66% da variabilidade observada.

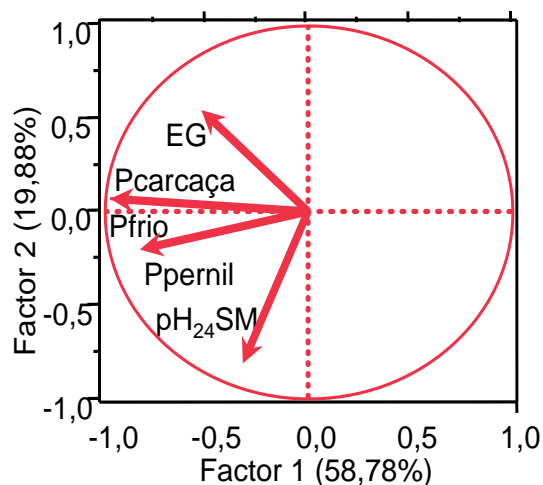


Figura 2 - Distribuição relativa dos pesos da matéria-prima de acordo com os resultados da análise de componentes principais.

Verifica-se que existe uma tendência para que os pesos da matéria-prima aumentem com o aumento da espessura de gordura (EG). Conforme esperado, os pesos das carcaças e em frio estão correlacionados entre si, o que também se pode verificar através da análise da Tabela 3.

Tabela 3 - Coeficientes de correlação entre os pesos da matéria-prima e a espessura de gordura (N=647)

Peso (Kg)	EG (mm)				
	r	R ²	R ² _{ajustado}	F	p
Carcaça	0,4436	0,1968	0,1927	48,01	<0,0001
Frio	0,4436	0,1968	0,1927	48,03	<0,0001
Pernil	0,1701	0,0289	0,0240	5,84	0,0166

4.2. Selecção dos pernis

Os pernis com um peso inferior a 11 Kg (Figura 3) e um baixo nível de gordura infiltrada (marmoreado inferior ao nível 2) (Figura 4) eliminaram-se do modelo por não se considerarem aptos para ser submetidos a um processo de cura de longa duração.

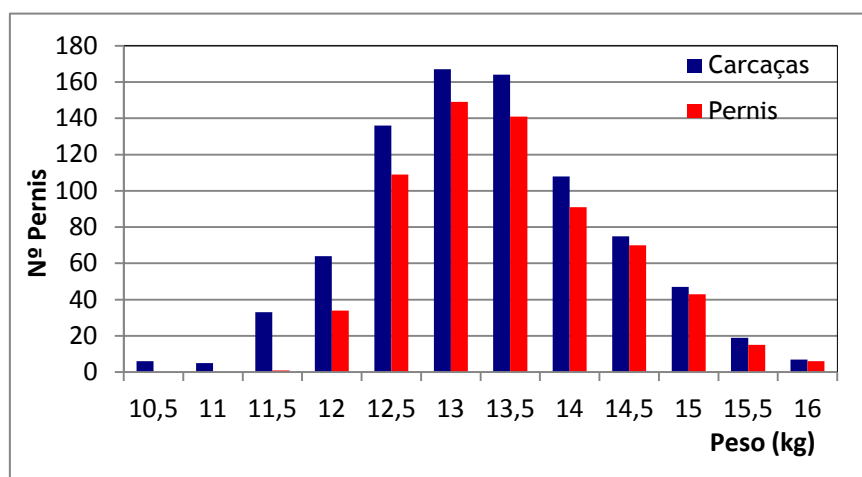


Figura 3 - Distribuição dos pesos das carcaças e pernis avaliados (N=647).

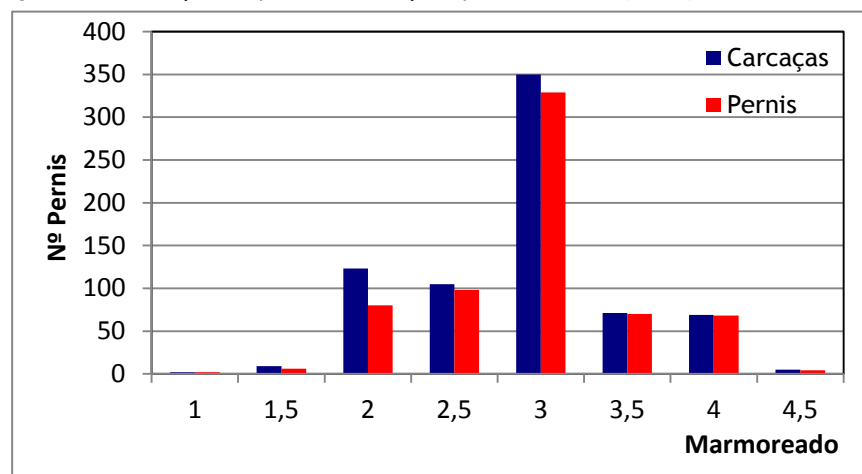


Figura 4 - Distribuição do marmoreado do músculo *gluteus medius* nas carcaças e pernis avaliados (N=647).

Os pernis deste estudo representaram cerca de 10% (N=66) da população inicial e seleccionaram-se com base nos valores de pH_{24SM} e EG, de forma a representar valores superiores ou inferiores aos obtidos na sala de desmancha (Figura 5) e incluindo todos os intervalos de pH_{24SM} e EG. Os critérios utilizados para a definição dos valores extremos foram pernis de pH baixo (valor igual ou inferior a 5,35) e pH alto (valores iguais ou superiores a 5,85). Do mesmo modo, definiram-se os presuntos com baixo teor de gordura infiltrada (≤ 14 mm) e elevado teor de gordura infiltrada (≥ 25 mm). O número e proporção de pernis para cada um dos grupos considerados apresentam-se na Tabela 4.

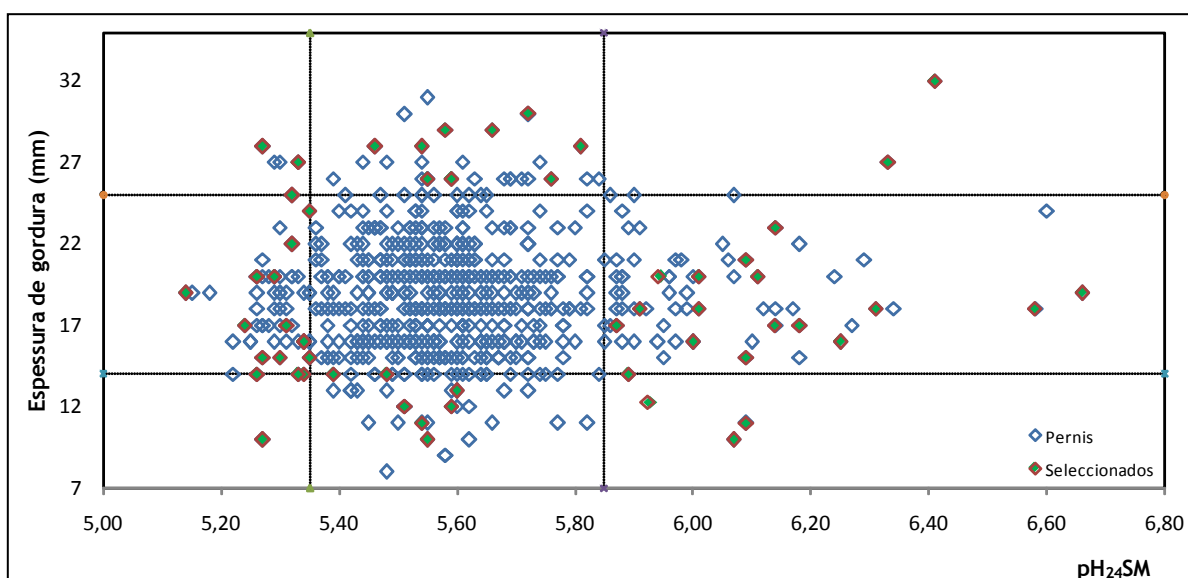


Figura 5 - Distribuição dos pernis seleccionados.

Tabela 4 - Número e proporção de pernis com valores extremos de pH_{24SM} e espessura de gordura (N=647)

<i>Critério</i>	<i>Valor</i>	<i>N</i>	<i>%</i>
pH baixo	$\leq 5,35$	70	10,54
pH alto	$\geq 5,85$	76	11,45
EG baixo	≤ 14	63	9,49
EG alto	≥ 25	56	8,43

4.3. Características dos presuntos avaliados

Os presuntos elaborados, representativos dos valores extremos da população e sem defeitos aparentes de elaboração, foram seleccionados para o desenvolvimento deste estudo (N=66). O peso médio dos pernis foi de $13,14 \pm 0,94$ Kg no início do processo e de $12,08 \pm 1,56$ Kg no final da etapa de repouso, enquanto o peso médio dos presuntos elaborados foi de

8,30 ± 0,60 Kg no final da etapa de secagem e de 6,48 ± 0,57 Kg uma vez limpo para a sua comercialização (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores médios e desvio padrão dos pesos dos presuntos ao longo do processo de elaboração (N=66)

Peso (Kg)	Media	dp	Mínimo	Máximo
Pernil	13,14	0,94	11,70	15,65
Repouso	12,08	1,56	9,21	15,75
Curado	8,30	0,60	7,31	9,65
Limpo	6,48	0,57	5,22	7,61

O peso dos presuntos elaborados (curado) e limpos correlacionou-se significativamente com o peso dos pernis, e as perdas de peso no final da etapa de repouso também mostraram uma clara influência (Tabela 6). A finalização das etapas de repouso e secagem quando os presuntos alcançaram respectivamente perdas de peso médias de 10% e 40% do peso inicial explica a existência de correlações significativas observadas entre os pesos dos presuntos ao longo do processo.

Tabela 6 - Coeficientes de correlação entre os pesos dos presuntos seleccionados durante o processo de elaboração (N=66)

Peso (Kg)	Curado					Limpo				
	r	R²	R²_{ajustado}	F	p	r	R²	R²_{ajustado}	F	p
Pernil	0,72	0,51	0,51	148,19	<0,0001	0,66	0,43	0,43	145,79	<0,0001
Repouso	-0,46	0,17	0,16	29,14	<0,0001	-0,51	0,25	0,25	64,43	<0,0001
Curado	-	-	-	-	-	0,96	0,90	0,90	1318,10	<0,0001

No entanto, apesar de se terem considerado o peso e o marmoreado dos pernis na selecção dos presuntos em estudo, apenas a espessura de gordura ao nível do *gluteus medium* influenciou o peso das carcaças (0,363; $p \leq 0,001$). Do mesmo modo, a espessura de gordura (EG) também exerceu uma visível influência sobre o peso dos presuntos no final da etapa de repouso, o peso limpo e em menor escala sobre o peso curado (Tabela 7). Por sua vez, o valor de pH às 24h *post-mortem* (pH_{24SM}) apenas influenciou ligeiramente o peso dos pernis.

Tabela 7 - Coeficientes de correlação entre os pesos dos presuntos seleccionados e os critérios tecnológicos (N=66)

Peso (Kg)	pH_{24SM}					EG				
	r	R²	R²_{ajustado}	F	p	r	R²	R²_{ajustado}	F	p
Pernil	0,25	0,06	0,05	4,09	0,0472	ns				
Repouso	ns					-0,50	0,25	0,24	21,06	<0,0001
Curado	ns					0,51	0,16	0,14	8,67	0,0051
Limpo	ns					0,57	0,32	0,31	29,60	<0,0001

4.4. Composição físico-química muscular

As características das carcaças e a disposição anatômica dos músculos estudados incidem sobre a composição físico-química dos presuntos analisados. O teor de colagénio do músculo SM foi significativamente inferior aos dos músculos BF e QF (Tabela 8). Wheeler *et al.* (2000) obtiveram resultados bastante similares de teor de colagénio nos músculos SM e BF em carne fresca de porco. O músculo QF apresentou o menor teor de gordura, que foi superior no músculo SM relativamente ao BF, contrariamente aos resultados de Cilla *et al.* (2005). Os resultados do teor de proteína mostraram que este parâmetro foi significativamente superior no músculo SM e inferior no BF, de acordo com os resultados obtidos por Ruiz-Ramirez *et al.* (2006). No que se refere ao teor de sal, este foi significativamente superior no músculo BF e inferior no SM, paralelamente ao teor de humidade, e em concordância com os resultados Arnau *et al.* (1995), Monin *et al.* (1997), Gou *et al.* (2004) y Andronikov *et al.* (2013).

Os valores médios de humidade e de sal dos músculos BF e SM foram inferiores aos observados por Monin *et al.* (1997) em presunto de Boyonne e aos observados por Čandek-Potokar *et al.* (2002) e por Andronikov *et al.* (2013) em presunto Esloveno (Kraški pršut). O teor de gordura dos presuntos avaliados foi superior ao observado por este último autor para os músculos em questão. Valores bastante similares de teores de humidade foram obtidos por Cava *et al.* (1997) em presunto ibérico e de proteína por García-Garrido *et al.* (2000) em presunto de porco branco.

Tabela 8 - Composição físico-química dos músculos *biceps femoris* (BF), *quadriceps femoris* (QF) e *semimembranosus* (SM) no final do processo (N=66)

Teores (%)	BF	QF	SM
	Média ± dp	Média ± dp	Média ± dp
Humidade	52,33 ^a ± 0,36	51,88 ^a ± 0,37	44,23 ^b ± 0,38
Proteína	31,67 ^c ± 0,35	34,59 ^b ± 0,34	40,82 ^a ± 0,36
Gordura	7,23 ^b ± 0,28	4,89 ^c ± 0,28	9,45 ^a ± 0,29
Sal	4,77 ^a ± 0,05	4,20 ^b ± 0,05	3,75 ^c ± 0,05
Colagénio	1,27 ^a ± 0,10	1,43 ^a ± 0,10	0,68 ^b ± 0,10

Valores médios obtidos através do teste Tukey.

Médias com letra diferente na mesma linha indicam diferenças significativas para $p < 0,001$.

Os critérios tecnológicos considerados na selecção da matéria-prima (pH₂₄SM e EG) exerceram uma distinta influência sobre a composição físico-química dos músculos em estudo. O pH₂₄SM influenciou significativamente o teor de humidade do músculo QF, bem como o teor de colagénio dos três músculos. A espessura de gordura das carcaças influenciou o conteúdo em gordura do músculo BF e a dessecação do músculo SM. O sexo dos animais, fêmeas (n=35) ou machos castrados (n=31), afectou significativamente o conteúdo de gordura do músculo SM (Tabela 9).

Tabela 9 - Influências do teor salino e características das carcaças na composição físico-química dos músculos *biceps femoris* (BF), *quadriceps femoris* (QF) e *semimembranosus* (SM) (N=66)

Teores (%)	BF				QF				SM			
	Sexo	EG	pH ₂₄ SM	Sal	Sexo	EG	pH ₂₄ SM	Sal	Sexo	EG	pH ₂₄ SM	Sal
Humidade	ns	ns	ns	***	ns	ns	*	ns	ns	**	ns	*
Gordura	ns	**	ns	**	ns	ns	ns	**	**	ns	**	***
Proteína	ns	*	ns	**	ns	ns	ns	***	ns	*	ns	ns
Colagénio	ns	ns	***	ns	ns	ns	**	***	ns	ns	*	*

Procedimento General Linear Model (GLM).

Significância: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ns: não significativo.

Na Figura 6 encontra-se a representação do resultado da análise de componentes principais (PCA) para os parâmetros de composição físico-química. A projecção das variáveis nos dois sistemas de eixos seleccionados explica 73,81% da variação observada. Verifica-se que existe uma tendência para que o teor de sal aumente em paralelo com o aumento do teor de gordura, enquanto os teores de proteína, humidade e colagénio diminuem. O aumento dos teores de gordura e sal, tratando-se de composições percentuais, corresponde-se com uma diminuição do conteúdo proteico, enquanto a diminuição do teor de humidade está ocasionada, adicionalmente, pela desidratação dos músculos. Por sua vez, a composição em colagénio pode estar afectada simultaneamente pelo conteúdo de gordura, pela localização anatómica muscular e pelo sexo dos animais.

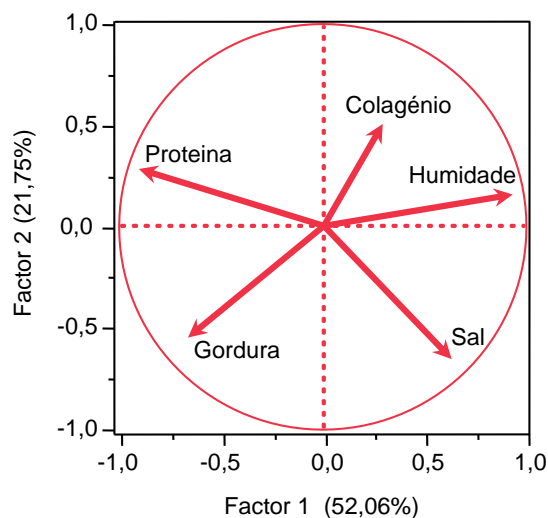


Figura 6 - Distribuição relativa dos parâmetros de composição físico-química de acordo com os resultados da análise de componentes principais (N=66).

Efectuou-se a representação dos três músculos em estudo no mesmo sistema de eixos de análise de componentes principais (Figura 7). Os músculos BF, QF e SM são diferentes, embora se verifique que o SM e o BF são claramente diferentes um do outro e QF tenha propriedades físico-químicas intermédias.

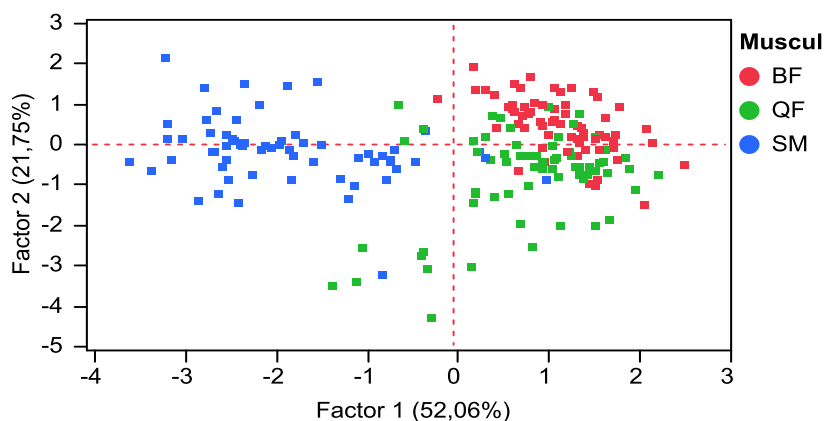


Figura 7 - Representação dos músculos *biceps femoris* (BF), *quadriceps femoris* (QF) e *semimembranosus* (SM) num sistema de eixos de PCA em função da sua composição físico-química (N=66).

A influência do valor de pH_{24SM} sobre o teor de colagénio dos músculos analisados associou-se à influência que este exerceu sobre o peso das carcaças. O aumento do peso dos animais foi acompanhado de um aumento do valor de pH_{24SM} e de uma diminuição do teor de colagénio dos músculos (Figura 8).

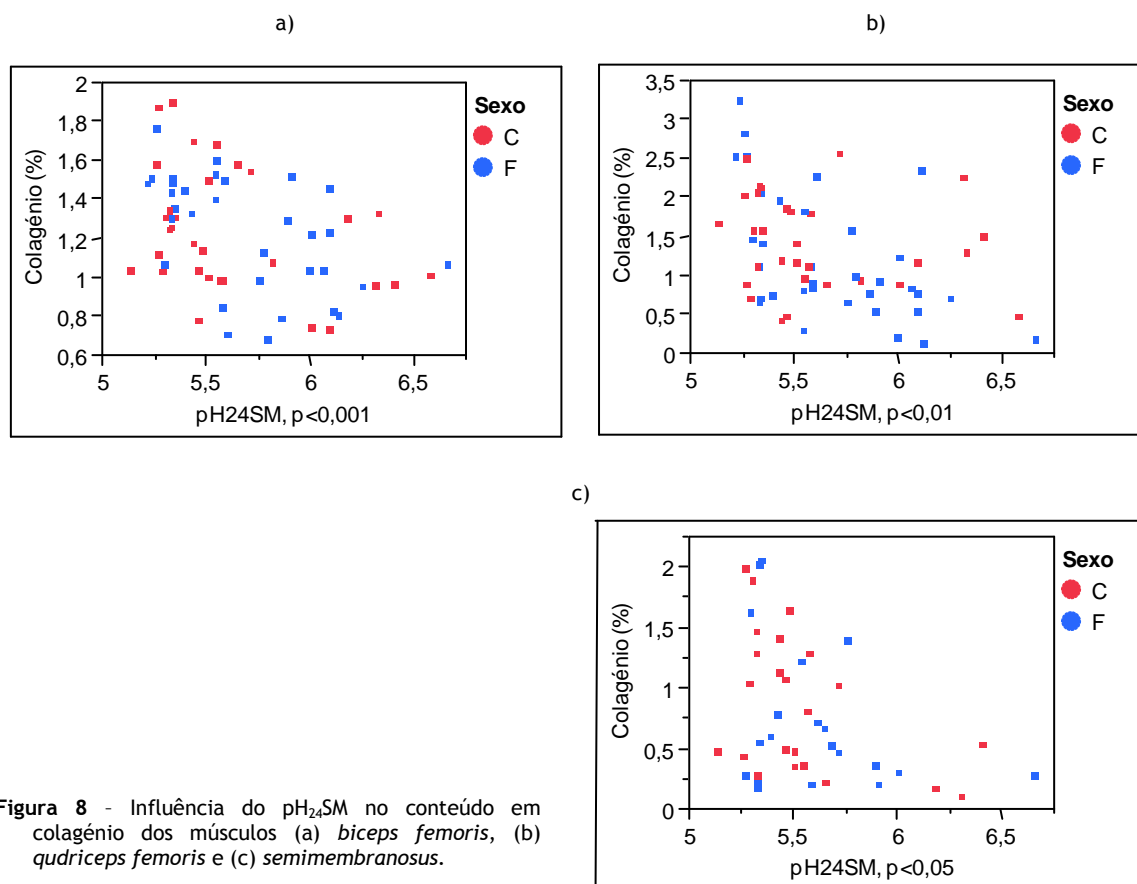


Figura 8 - Influência do pH_{24SM} no conteúdo em colagénio dos músculos (a) *biceps femoris*, (b) *quadriceps femoris* e (c) *semimembranosus*.

Por outro lado, os resultados obtidos indicam que com o aumento do valor do pH_{24SM} houve uma tendência de aumento do teor de humidade do músculo QF e de diminuição do teor de gordura do músculo SM (Figura 9). Com o aumento do valor de pH, García-Rey *et al.*

(2004) e Morales *et al.* (2007) observaram um aumento do teor de humidade e Ruíz-Ramírez *et al.* (2006) uma diminuição do teor de gordura, embora os seus estudos não contemplassem o efeito do músculo.

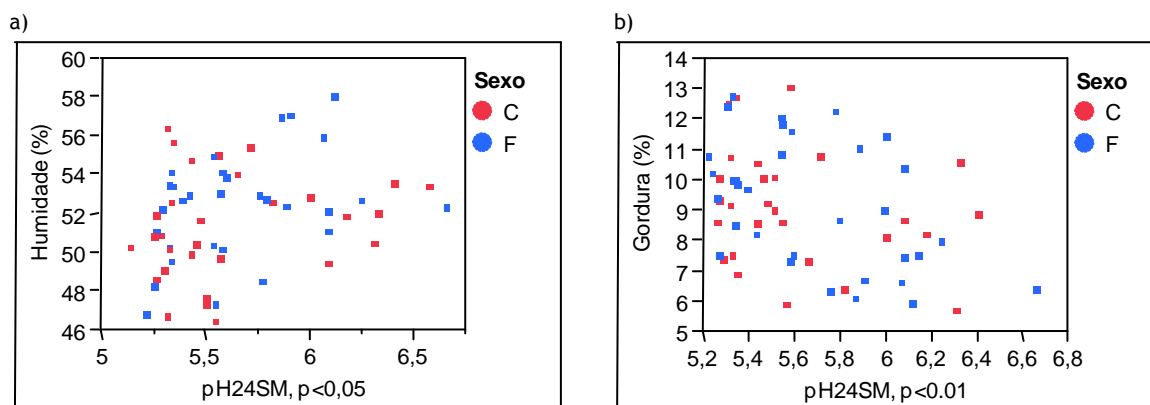


Figura 9 - Influência do pH₂₄SM sobre (a) o teor de humidade do músculo *quadriceps femoris* e (b) teor de gordura do músculo *semimembranosus*.

A influência do pH₂₄SM sobre o teor de humidade do músculo QF relacionou-se com a correlação significativa observada entre o teor de humidade e o teor proteico (-0,663; $p < 0,001$) e a influência do colagénio muscular (-0,342; $p < 0,01$) (Tabela 10), enquanto a influência do pH₂₄SM sobre o teor de gordura do músculo SM se associou à influência das perdas de peso dos pernis no final da etapa de repouso (0,297, $p \leq 0,05$). A informação relativa ao músculo QF é bastante limitada e embora seja um músculo importante, quer pelo tamanho, quer pela elevada capacidade oxidativa, o facto de estar constituído por quatro partes com diferente padrão metabólico torna difícil a sua utilização em vários estudos relativos à qualidade da carne (Karlsson *et al.*, 1993).

A espessura de gordura das carcaças exerceu a sua influência (0,398; $p \leq 0,01$) sobre o peso curado dos presuntos e sobre as perdas de peso no final da etapa de repouso (-0,504; $p \leq 0,001$). Por sua vez, a espessura de gordura das carcaças influenciou significativamente o teor de gordura infiltrada do músculo BF e a dessecação do músculo SM e, tratando-se de composições percentuais, consideram-se responsáveis pelo efeito paralelo sobre o teor proteico de ambos os músculos (Tabela 9). A percentagem de proteína esteve inversamente correlacionada com o teor de humidade do músculo SM (-0,746; $p \leq 0,001$) e exerceu uma ligeira influência sobre o teor de gordura do músculo BF (-0,265; $p \leq 0,05$). Por sua vez, o teor de gordura do músculo SM foi mais elevado nas fêmeas (9,81% \pm 0,32) do que nos machos castrados (8,45% \pm 0,34).

As diferenças no conteúdo de gordura muscular afectaram a distribuição salina e a humidade dos músculos estudados. O teor de sal aumentou com o teor de gordura muscular (Figura 10), enquanto o teor de humidade dos músculos BF e SM diminuiu (Figura 11).

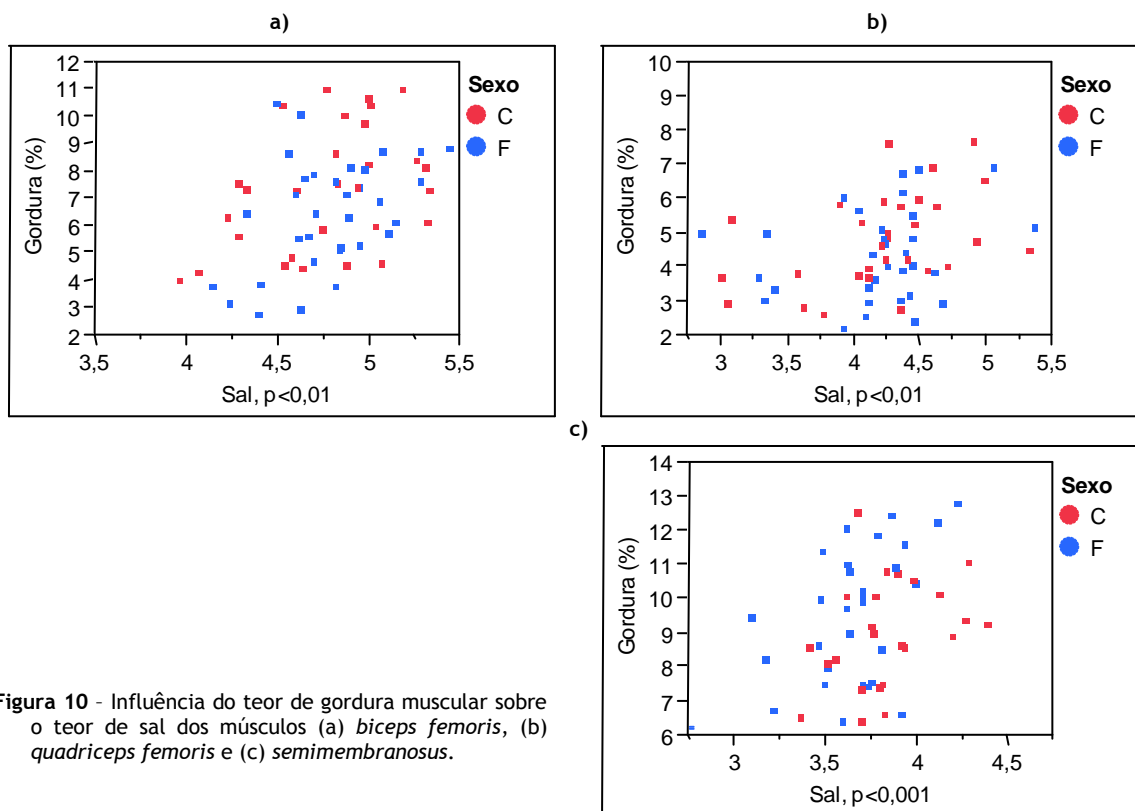


Figura 10 - Influência do teor de gordura muscular sobre o teor de sal dos músculos (a) *biceps femoris*, (b) *quadriceps femoris* e (c) *semimembranosus*.

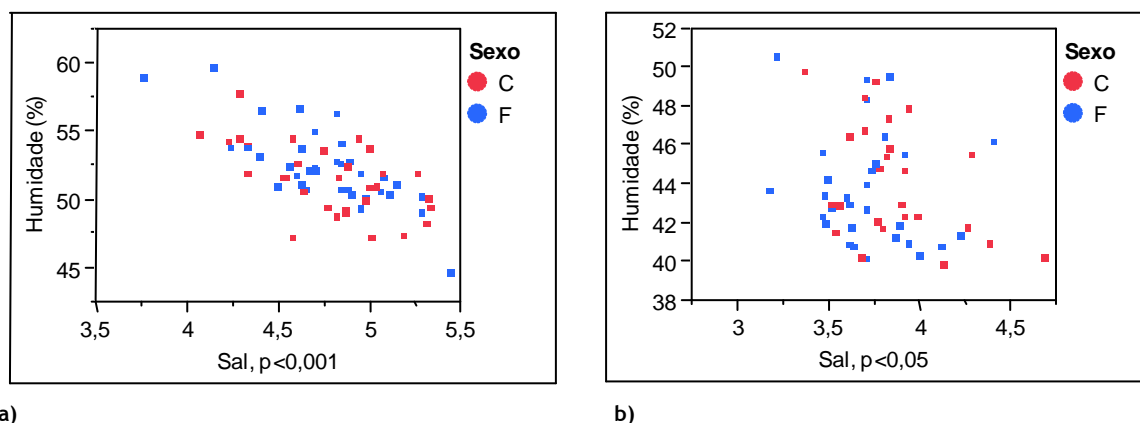


Figura 11 - Influência do teor de humidade sobre o teor de sal dos músculos (a) *biceps femoris* e (b) *semimembranosus*.

A influência do sal sobre o teor proteico do músculo BF considerou-se um efeito paralelo ao efeito que exerceu sobre os teores de humidade e gordura musculares, enquanto a influência sobre o teor em colagénio do músculo SM se associou ao efeito conjunto do sal sobre a composição muscular e o processo de evaporação.

O efeito combinado dos critérios tecnológicos avaliados afectou o processo de secagem, incidindo sobre a absorção e distribuição de sal nos músculos estudados. Deste modo, o teor de sal em peso seco foi influenciado pelo valor de $pH_{24}SM$ no músculo BF (0,244; $p \leq 0,05$) e

pela espessura de gordura no músculo SM (0,315; $p \leq 0,01$), enquanto as perdas de peso no final da etapa de repouso foram influenciadas pelo teor de sal dos músculos BF (0,334; $p \leq 0,01$), QF (0,401; $p \leq 0,01$) e SM (0,296; $p \leq 0,05$).

Os resultados obtidos correspondem às práticas habituais de produção. Os processos de produção longos requerem presuntos de peso elevado e um certo teor de gordura que facilita a regulação da etapa de secagem, associado à evaporação de água nos músculos superficiais em condições de temperatura e humidade relativa adequadas. Deste modo, os músculos internos (BF e QF) apresentaram um maior teor de água, enquanto a localização externa do músculo SM favoreceu um grau de dessecação mais elevado (Arnau *et al.*, 1995; Vestergaard *et al.*, 2000).

As características das carcaças também tiveram efeito na regulação do processo de dessecação e, em consequência, na composição físico-química dos músculos estudados. O incremento do teor de sal do músculo BF, que aumentou paralelamente ao seu teor de gordura, indica que a gordura afecta a difusão de sal durante o processo de cura. A concentração de sal influenciou as perdas de peso dos presuntos no final da etapa de repouso no músculo BF (0,334; $p \leq 0,01$), QF (0,401; $p \leq 0,01$) e SM (0,296; $p \leq 0,05$), enquanto a quantidade de sal absorvido pelo músculo SM (concentração salina em matéria seca) foi influenciada pela espessura de gordura das carcaças (0,31; $p \leq 0,05$). No entanto, a influência do teor de gordura sobre a velocidade de difusão de água foi comparativamente inferior à do sal, uma vez que não se observaram diferenças entre o conteúdo aquoso dos músculos BF e QF.

A dessecação dos presuntos é um processo que sofre a influência das diferentes velocidades de difusão de água e de sal, tanto no conteúdo magro como no teor de gordura, e que nas condições adequadas se retroalimenta sistematicamente. Durante as primeiras etapas do processo, a água que goteja desde o interior dos presuntos (água ligada) dissolve o sal que, por sua vez, penetra no interior dos mesmos e induz um aumento da pressão osmótica e a liberação da água da estrutura miofibrilar (água imobilizada) (Offer e Knight, 1988; revisto por Huff-Lonergan e Lonergan, 2005). Posteriormente a água liberada difunde-se até ao exterior dos presuntos. Uma menor influência da gordura sobre a difusão de água permite a sua mobilização até ao exterior e induz um decréscimo da humidade, produzindo um aumento da concentração salina nos músculos interiores. Com o incremento da concentração salina aumenta novamente a pressão osmótica e a liberação de água da estrutura miofibrilar. A regulação adequada das velocidades de difusão até ao exterior e de evaporação de água evita uma dessecação superficial excessiva que pode induzir a dessecação irregular dos músculos e consequentemente, a formação de uma crosta

superficial que poderia provocar a interrupção do processo. Por outro lado, uma evaporação excessivamente lenta poderia limitar a mobilização de água até ao exterior e o aumento das concentrações salinas dos músculos interiores, condicionando a estabilidade do produto e facilitando a actividade das enzimas endógenas (Hortós, 1995).

Os pernis analisados neste estudo apresentaram um amplo intervalo de $\text{pH}_{24\text{SM}}$ (5,13–6,78) com vista a fomentar o efeito do pH sobre o processo de cura, uma vez que a variação dos valores de pH da própria carne não parece ser suficiente para explicar a notável influência que exerce sobre as características do presunto curado. A relação entre o $\text{pH}_{24\text{SM}}$ e o conteúdo em colagénio muscular está provavelmente associada a uma variação do desenvolvimento da estrutura muscular. Embora não se possam precisar as causas que determinam a influência do $\text{pH}_{24\text{SM}}$ sobre a estrutura muscular, parece razoável considerar que as diferenças na morfologia muscular podem afectar significativamente o desenvolvimento do processo.

De um modo geral, os resultados mostram a importância da genética e das linhas de produção animal nas características do produto final. A influência das características da matéria-prima sobre a dessecção do produto elaborado possui também uma importante conotação comercial. Assim, o peso comercial dos presuntos curados aumenta com os valores de $\text{pH}_{24\text{SM}}$ e com a EG das carcaças, aumentando o lucro económico associado ao produto. Embora se considere a selecção dos intervalos idóneos de $\text{pH}_{24\text{SM}}$ e EG das carcaças, é necessário considerar também as características sensoriais do produto acabado e a possível presença de defeitos de elaboração.

Por último, os resultados obtidos também denotam a influência do sexo na composição dos presuntos curados, embora não se possa determinar se se trata de uma consequência das características diferenciais na morfologia e metabolismo dos animais, do efeito sobre o teor de gordura do músculo SM ou um efeito combinado de ambos os factores. Para uma análise mais aprofundada são necessários mais estudos com um desenho experimental de adequação ao efeito.

4.5. Índices associados aos processos oxidativos, lipolíticos e proteolíticos

O desenvolvimento dos processos oxidativos e proteolíticos diferiu entre os músculos avaliados. O músculo BF apresentou o menor conteúdo em substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) e menor índice de acidez (IA), enquanto os valores mais elevados de

TBARs e IA se observaram no músculo SM (Tabela10). Resultados similares foram obtidos por Cava *et al.* (1999). Por outro lado, os valores mais elevados de teor em azoto não proteico (NNP) e índice de proteólise (IP) verificaram-se nos músculos BF e QF enquanto no músculo SM foram significativamente menores, à semelhança dos resultados obtidos por García-Garrido *et al.* (2000), Čandek-Potokar *et al.* (2002) e Ruíz-Ramírez *et al.* (2006).

Tabela 10 - Conteúdo em compostos oxidativos e fracções azotadas dos músculos bíceps femoris (BF), *quadriceps femoris* (QF) e *semimembranosus* (SM) (N=66)

	BF		QF		SM	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
TBARs	0,86 ^c	± 0,09	2,04 ^b	± 0,09	2,66 ^a	± 0,09
IA	2,65 ^b	± 0,05	2,67 ^b	± 0,05	3,26 ^a	± 0,05
NNP	10,34 ^a	± 0,13	10,15 ^a	± 0,13	9,04 ^b	± 0,13
IP	32,60 ^a	± 0,44	29,87 ^b	± 0,44	22,48 ^c	± 0,44

Valores médios obtidos através do teste Tukey.

Médias com letra diferente na mesma linha indicam diferenças significativas para $p < 0,001$.

Unidades: TBARs: ppm de MDA; IA: % de ácido oleico; NNP: %; IP: (NNP \times 100/N_{TOTAL})

Tabela 11 - Influência das características da matéria-prima e do sal sobre a oxidação e degradação das biomoléculas (N=66)

	BF				QF				SM			
	Sexo	EG	pH ₂₄ SM	Sal	Sexo	EG	pH ₂₄ SM	Sal	Sexo	EG	pH ₂₄ SM	Sal
TBARs	*	ns	***	ns	ns	ns	**	*	ns	ns	**	ns
IA	ns	*	***	ns	ns	ns	***	ns	ns	*	ns	ns
IP	ns	**	***	ns	*	ns	***	**	*	**	***	ns
NNP	ns	ns	***	ns	*	ns	***	ns	*	ns	***	***

Procedimento General Linear Model (GLM).

Significância: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; ns: não significativo.

Unidades: EG: mm de espessura de gordura; TBARs: ppm de MDA; IA: % de ácido oleico; NNP: %; IP: (NNP \times 100/Proteína)

Os resultados obtidos assinalam a influência diferencial das características da matéria-prima e distribuição salina sobre o desenvolvimento dos processos oxidativos, lipolíticos e proteolíticos dos presuntos estudados. O pH₂₄SM das carcaças afectou a oxidação e degradação proteica dos músculos avaliados, enquanto a EG exerceu a sua influência sobre a intensidade processos lipolíticos (IA) e degradação das fracções azotadas (IP) dos músculos com maior teor de gordura (BF e SM). Paralelamente, a degradação das fracções azotadas dos músculos QF e SM sofreu a influência significativa do sexo dos animais (Tabela 11).

4.5.1. Influência do sal

O cloreto de sódio é um agente pro-oxidante (Kanner, 1994, Morrisey *et al.*,1998) através de mecanismos ainda não estabelecidos. O sal pode facilitar a mobilização de ferro dos grupos prostéticos que são capazes de catalisar reacções de oxidação. O sal incide sobre a actividade

enzimática associada à oxidação dos lípidos e das proteínas musculares e exerce uma influência distinta sobre a actividade das enzimas lipolíticas, inibindo a actividade da lipase neutra e estimulando a actividade da lipase ácida lisossomal (Motilva *et al.*, 1993). No entanto, a actividade das enzimas antioxidantes (catalase, glutathion peroxidase e superóxido dismutase) (Lee *et al.*, 1997), das catepsinas lisossomais (Aristoy e Toldrá, 1998; Parreño *et al.*, 1998) e aminopeptidases (Toldrá, 2006) endógenas da carne diminui com a concentração salina. Por outro lado, o sal incide sobre a solubilidade das proteínas musculares, que aumenta até alcançar concentrações de cerca de 1M (*salting in*) e diminui a partir de concentrações superiores (*salting out*) (Hultin *et al.*, 1995; Offer e Knight, 1988).

Apesar do conteúdo salino do músculo BF não se ter relacionado com as modificações que experimentam as biomoléculas, o sal exerceu uma influência notável sobre as modificações que estas experimentam durante o processo de cura. A concentração salina dos presuntos elaborados depende simultaneamente da quantidade de sal absorvida e do grau de dessecação que experimentam as peças. A absorção de sal nos músculos superficiais induz um rápido incremento da concentração salina do músculo SM, que limita a solubilidade proteica e a actividade enzimática e determinou um menor teor de azoto não proteico neste músculo (tal como os resultados de Čandek-Potokar *et al.*, 2002).

Nos músculos BF e QF, a concentração de sal aumenta progressivamente até ao final da etapa de repouso, quer devido à difusão de sal até ao interior do produto, quer durante a secagem devido à dessecação dos músculos. A evolução paralela da concentração salina nos músculos internos determinou que o seu teor de NNP fosse similar, embora apenas a concentração salina do músculo QF tenha influenciado significativamente o seu índice de proteólise (IP).

A concentração de sal do músculo QF não influenciou significativamente o teor de NNP e os valores de IP foram inferiores aos dos músculo BF. As causas destas diferenças relacionaram-se com as características diferenciais dos músculos analisados, uma vez que o diferente teor de gordura dos músculos internos reflecte diferenças importantes de metabolismo muscular. Apesar das diferenças metabólicas musculares e da diferente influência do sal, os índices associados à degradação proteica correlacionaram-se significativamente nos três músculos estudados, BF (0,862; $p < 0,001$), QF (0,875; $p < 0,001$) e SM (0,780; $p < 0,001$).

A influência do sal sobre os fenómenos lipolíticos e oxidativos foi menor. O conteúdo em TBARs do músculo QF foi o único índice avaliado que esteve correlacionado com o teor de sal, no entanto não se observaram correlações significativas com nenhum dos índices avaliados

(Tabela 12). Comparativamente aos valores observados no músculo BF, o elevado grau de oxidação e o baixo teor de gordura do músculo QF indica que os mecanismos oxidativos aos quais esteve sujeito foram ocasionados por factores distintos aos do músculo BF.

A composição em ácidos gordos afecta a oxidação no processo de cura e é um dos principais factores responsáveis pelo aroma, cor e textura do presunto. Os produtos primários de oxidação (que se verificam normalmente através do índice de peróxidos) mostram um incremento constante durante os primeiros meses do processo, alcançando um máximo entre o segundo e quarto mês, decrescendo posteriormente até alcançar valores praticamente indetectáveis no produto elaborado. Baseados neste paralelismo, alguns autores defendem que a lipólise favorece a formação de compostos oxidados (Nawar, 1996), embora a relação entre a lipólise e os produtos de oxidação não se tenha demonstrado (Vestergaard *et al.*, 2000; revisto por Gandemer, 2009). De acordo com estes autores, o elevado e similar conteúdo dos valores de IA, em conjunto com a composição em ácidos gordos também similar nos três músculos em análise, não permite explicar as diferenças determinadas entre os valores musculares de TBARs.

Tabela 12 - Coeficientes de correlação dos índices oxidativos e lipolíticos com os índices avaliados (N=66)

	TBARs					IA				
	r	R ²	R ² _{ajustado}	F	p	r	R ²	R ² _{ajustado}	F	p
BF										
IA	0,46	0,21	0,20	16,57	0,0001	-	-	-	-	-
IP	0,40	0,16	0,15	12,49	0,0008	0,33	0,11	0,10	7,86	0,0067
NNP	0,68	0,47	0,46	55,71	<0,0001	0,39	0,15	0,14	11,03	0,0015
QF										
IA			ns			-	-	-	-	-
IP			ns			0,33	0,11	0,09	7,11	0,0098
NNP			ns			0,52	0,27	0,26	22,31	<0,0001
SM										
IA	0,39	0,14	0,13	10,55	0,0019	-	-	-	-	-
IP			ns					ns		
NNP			ns					ns		

As causas destas diferenças relacionam-se com as distintas características metabólicas do músculo QF (oxidativo) (Alasnier e Gandemer, 2000). Além da presença de radicais livres e lípidos oxidados, a formação de espécies químicas que potenciam os processos oxidativos também depende do conteúdo em enzimas oxidativas, pigmentos heme (mioglobina e hemoglobina) e metais de transição, entre outros factores (Faustman *et al.*, 2010; Xiong, 2000), que diferem de acordo com o tipo metabólico muscular. O sal pode ter favorecido a libertação de iões ferro ou a formação de radicais ferryl do grupo heme nos músculos

oxidativos (vermelhos), que apresentam maior aporte de vasos sanguíneos e conteúdo em mitocôndrias, sendo o responsável do elevado conteúdo de TBARs observado no músculo QF.

O conteúdo em TBARs mais elevado do músculo SM, relativamente ao BF, pode ser devido à sua composição em antioxidantes. Gratacós-Cubarsí *et al.* (2013) assinalaram um teor de nicotinamida e piridoxina superior no músculo BF e uma maior susceptibilidade oxidativa (TBARs induzidos por ferro), actividade de superóxido dismutase e teor de riboflavina no músculo SM. Por outro lado, os produtos secundários de oxidação (TBARs) possuem uma evolução diferente da dos peróxidos. A formação de compostos voláteis derivados da oxidação lipídica aumenta até às fases intermédias do processo, em presuntos Ibéricos e de Parma, e decresce no final da fase de cura (Hirinchsen e Pedersen, 1995; Ruiz *et al.*, 1999). Deste modo, a formação de produtos secundários de oxidação parece ser favorecida por uma desidratação moderada quando a actividade das enzimas oxidativas é inibida pela difusão de sal. O contacto com o oxigénio ambiental dos músculos superficiais também pode ter determinado o maior índice de oxidação observado no músculo SM.

4.5.2. Influência da espessura de gordura

O presunto curado apresenta diferentes níveis de gordura devido às características genéticas e aos sistemas de produção. O conteúdo de gordura intramuscular (IMF) considera-se um factor de qualidade, mas é aquele que mais afecta a aparência, textura, suculência e persistência do aroma (Ruiz *et al.*, 2002; Gandemer *et al.*, 2009). O IMF e a espessura de gordura afectam a entrada de sal e a velocidade de desidratação e a composição em ácidos gordos afecta os fenómenos oxidativos que se desenvolvem ao longo do processo de cura.

De acordo com o seu conteúdo de IMF, o conteúdo dos ácidos gordos analisados foi inferior no músculo QF e superior nos músculos BF e SM. Todos os ácidos gordos foram superiores no músculo SM, à excepção do conteúdo em araquidónico que foi superior no músculo BF e em esteárico e dihomo- γ -linolenico que foram superiores nos músculos BF e SM. Por sua vez, o conteúdo em ácido laurico, margárico, cis-7-hexadecenoico e cis-vaccénico foi similar nos músculos BF e QF.

Os músculos em análise apresentaram uma composição em ácidos gordos similar, devido ao facto do conteúdo em ácidos gordos depender fundamentalmente da dieta ingerida. O ácido oleico foi o mais abundante e o grande responsável pela elevada proporção de ácidos gordos monoinsaturados (MUFAs) dos músculos avaliados (de 47,97 a 51,51%). Os ácidos

palmítico (22,73 a 23,29%), esteárico (11,21 a 12,5%) e mirístico (1,41 a 1,58%) foram os ácidos gordos saturados (SFA) mais abundantes. Por sua vez, os ácidos gordos polinsaturados (PUFAs) mais abundantes foram o linoleico (9,23 a 10,84%) e o araquidónico (1,22 a 1,81%). A proporção de SFAs e PUFAs representou, respectivamente, 36,38 – 37,63% e 11,9 – 13,92%. De acordo com o menor conteúdo de gordura infiltrada, o músculo QF apresentou uma maior percentagem em PUFAs e menor em MUFAs, uma vez que os primeiros são componentes maioritários das membranas celulares e que o ácido oleico se encontra essencialmente localizado nos triglicéridos. Os resultados correspondem-se com os valores descritos em presuntos curados de raças de porco branco e com a tendência actual de elevar o conteúdo em oleico das dietas animais pelo seu efeito benéfico para a saúde humana. No entanto, a relação entre os ácidos gordos n-6/n-3 dos presuntos elaborados é ainda excessivamente elevada segundo as recomendações sanitárias (Fernández et al., 2007; Jiménez-Colmenero *et al.*, 2010).

Tabela 13 - Composição em ácidos gordos (g/100g) maioritários dos músculos *biceps femoris* (BF), *quadriceps femoris* (QF) e *semimembranosus* (SM) (N=66)

AGT	BF			QF			SM			
	Média	±	dp	Média	±	dp	Média	±	dp	
Saturados										
laurico	C12:0	0,008 ^b	±	0,010	0,007 ^b	±	0,020	0,021 ^a	±	0,010
mirístico	C14:0	0,100 ^b	±	0,010	0,070 ^c	±	0,010	0,130 ^a	±	0,010
palmítico	C16:0	1,600 ^b	±	0,050	1,160 ^c	±	0,050	1,890 ^a	±	0,050
margárico	C17:0	0,017 ^b	±	0,001	0,017 ^b	±	0,001	0,026 ^a	±	0,001
esteárico	C18:0	0,880 ^a	±	0,030	0,620 ^b	±	0,030	0,920 ^a	±	0,030
Monoinsaturados										
palmitoleico	C16:1(n-7)	0,220 ^b	±	0,010	0,130 ^c	±	0,010	0,260 ^a	±	0,010
cis-7-hexadecenoico	C16:1(n-9)	0,022 ^b	±	0,001	0,020 ^b	±	0,001	0,036 ^a	±	0,001
heptadecenoico	C17:1	0,020 ^b	±	0,001	0,016 ^c	±	0,001	0,028 ^a	±	0,001
oleico	C18:1(n-9)	3,050 ^b	±	0,100	2,000 ^c	±	0,100	3,500 ^a	±	0,100
cis-vaccenico	C18:1(n-7)	0,200 ^b	±	0,010	0,180 ^b	±	0,010	0,340 ^a	±	0,010
eicosenoico	C20:1(n-9)	0,055 ^b	±	0,002	0,043 ^c	±	0,002	0,065 ^a	±	0,002
Polinsaturados										
linoleico	C18:2(n-6)	0,650 ^b	±	0,030	0,540 ^c	±	0,030	0,800 ^a	±	0,030
α-linolenico	C18:3(n-3)	0,038 ^a	±	0,001	0,028 ^b	±	0,001	0,035 ^a	±	0,001
eicosadienoico	C20:2(n-6)	0,024 ^b	±	0,001	0,021 ^c	±	0,001	0,028 ^a	±	0,001
dihomo-γ-linolenico	C20:3(n-6)	0,016 ^a	±	0,001	0,014 ^b	±	0,001	0,015 ^{ab}	±	0,001
araquidónico	C20:4(n-6)	0,110 ^a	±	0,010	0,090 ^b	±	0,010	0,100 ^b	±	0,010
Ácidos gordos (g/100g)		7,040 ^b	±	0,220	4,980 ^c	±	0,220	8,210 ^a	±	0,220

Valores médios obtidos através do teste Tukey.

Médias com letra diferente na mesma linha indicam diferenças significativas para $p < 0,001$.

O efeito da espessura de gordura sobre os valores dos índices de acidez (IA) e de proteólise (IP) dos músculos com maior teor de gordura (BF e SM) relacionou-se com a influência que também exerceu sobre a composição de gordura e proteína muscular (Tabela 9). A degradação dos lípidos musculares aumentou com o aumento do conteúdo em gordura infiltrada do músculo BF, embora não explique que os valores observados neste músculo fossem semelhantes aos do músculo QF. Por outro lado, a espessura de gordura das carcaças não exerceu a sua influência sobre o conteúdo de gordura dos músculos QF e SM, que foi o músculo com maior IA. Uma maior formação de ácidos gordos livres no músculo SM, em relação ao BF, foi descrita em presunto de Parma (Vestergaard *et al.*,2000) e ibéricos (Ventanas, 2006).

A intensa formação de ácidos gordos observada durante os primeiros meses do processo de cura (4-5 meses), que se limita em fases posteriores, é uma consequência maioritária da degradação de fosfolípidos musculares (Toldrá e Flores, 1998). Uma desidratação moderada e a difusão de sal favorecem a actividade lipolítica muscular e a formação de ácidos gordos livres que, no entanto, se podem limitar quando a desidratação é excessiva. Vestergaard *et al.* (2000) postularam que a influência das condições estabelecidas durante o processo de cura minimiza as diferenças na actividade lipolítica dos músculos frescos. A menor participação dos triglicéridos na formação de ácidos gordos livres explica a menor influência do teor de gordura sobre os valores de IA, enquanto a influência das condições do processo sobre as actividades lipolíticas musculares explica as menores diferenças observadas entre os valores de IA dos músculos avaliados.

Por outro lado, também é difícil de explicar o efeito da espessura de gordura na degradação proteica. O IP ($NNP \cdot 100 / N_{TOTAL}$) reflecte a proporção de fracções azotadas de baixo peso molecular formadas independentemente das variações da composição muscular. No entanto, o teor de gordura muscular afectou a distribuição salina dos músculos em análise (capítulo 4.4), o que pode ter determinado a sua influência sobre os índices valorados. Os valores de IA e IP dos músculos BF e SM sofreram de forma distinta a influência da quantidade de sal absorvida (Tabela 14).

Tabela 14 - Coeficientes de correlação entre a quantidade de sal absorvida e os índices de lipólise e proteólise (N=66)

	BF					SM				
	r	R ²	R ² _{ajustado}	F	p	r	R ²	R ² _{ajustado}	F	p
IA	-0,33	0,26	0,24	19,59	<,0001	-0,54	0,24	0,23	16,89	0,0001
IP	-0,38	0,10	0,08	5,58	0,022	-0,32	0,11	0,10	6,85	0,0115

É ainda importante mencionar a possibilidade da existência de uma interacção entre ambos os processos. A presença de ácidos gordos livres no meio pode ter afectado as interacções iónicas em solução e modificar a solubilidade e disponibilidade dos substratos, afectando a eficiência das enzimas implicadas, o que poderia explicar o facto de que os valores de IA apenas se terem relacionado com os valores de TBARs no músculo SM (Tabela 14).

4.5.3. Influência do sexo dos animais

O sexo influenciou o grau de oxidação do músculo BF e de proteólise dos músculos QF e SM. Os valores de IP e do teor de NNP dos músculos QF e SM foram superiores em presuntos de procedentes de machos castrados (n=31) relativamente aos de fêmeas (n=35) (Tabela 15). O conteúdo em TBARs do músculo BF também foi mais elevado nos presuntos procedentes de machos castrados ($0,90 \pm 0,02$) do que nos de fêmeas ($0,83 \pm 0,02$). As diferenças no grau de proteólise dos presuntos avaliados neste trabalho não se corresponderam com as diferenças de teor de sal dos músculos QF. No entanto, o conteúdo salino do músculo SM foi superior nos músculos procedentes de machos castrados ($3,86 \pm 0,05$) em relação às fêmeas ($3,66 \pm 0,05$).

Tabela 15 - Valores médios e desvios padrão do índice de proteólise (IP) e teor de azoto não proteico (NNP) dos músculos *quadriceps femoris* (QF) e *semimembranosus* (SM) de fêmeas e machos castrados (N=66)

	QF				SM			
	Machos castrados		Fêmeas		Machos castrados		Fêmeas	
	Media	dp	Media	dp	Media	dp	Media	dp
IP	30,45 ^a	$\pm 0,49$	28,76 ^b	$\pm 0,46$	23,09 ^a	$\pm 0,41$	21,76 ^b	$\pm 0,39$
NNP	10,39 ^a	$\pm 0,14$	9,94 ^b	$\pm 0,13$	9,30 ^a	$\pm 0,11$	8,85 ^b	$\pm 0,11$

Valores médios obtidos através do teste Tukey.

Médias com letra diferente na mesma linha indicam diferenças significativas para $p < 0,001$.

As carcaças procedentes de machos castrados apresentam maior espessura de gordura do que as carcaças procedentes de fêmeas e maior conteúdo de gordura inter- e intramuscular (Čandek-Potokar *et al.*, 1997 e 2002).

A influência do sexo sobre a qualidade do presunto curado foi avaliada num número limitado de trabalhos (Matassino *et al.*, 1987; Gou *et al.*, 1995). Čandek-Potokar *et al.* (2002) observaram menor teor de NNP no músculo BF de presuntos procedentes de machos castrados, embora a discrepância de resultados se possa dever à diferente origem dos presuntos analisados.

Quando os presuntos são produzidos de acordo com etapas de duração definida, aqueles que procedem de carcaças de machos castrados possuem maior espessura de gordura, maior conteúdo de gordura infiltrada e menores perdas de peso ao longo do processo e no produto elaborado (Gou *et al.*, 1995). Deste modo, além do potencial proteolítico, as diferenças na morfologia dos presuntos associadas ao sexo dos animais também pode ter influenciado os resultados.

4.5.4. Influência do pH₂₄SM

O pH₂₄SM exerceu uma influência notável sobre os processos proteolíticos, lipolíticos e oxidativos dos presuntos em estudo (Tabela 11). Com o aumento do valor de pH₂₄SM verificou-se uma diminuição dos índices proteolíticos (IP e NNP) e oxidativos (TBARs) nos três músculos em estudo e da degradação dos lípidos musculares (IA) nos músculos internos (BF e QF). A mesma relação foi observada nos músculos BF e SM por Morales *et al.* (2007) e García-Rey *et al.* (2004) para IP e NNP, respectivamente.

A influência que o pH inicial dos pernis exerce na proteólise e características sensoriais de presunto curado foi avaliada em grupos de presuntos seleccionados comercialmente, enquanto o efeito sobre os processos oxidativos e a degradação dos lípidos musculares não está estudado. A maior formação de ácidos gordos livres observada com a diminuição do valor de pH₂₄SM corresponde-se com os resultados de Buscailhon *et al.* (1994), que assinalam um incremento dos fenómenos lipolíticos durante o processo de cura de presuntos franceses com valores de pH inicial baixos (inferiores a 6,1).

A influência do metabolismo oxidativo em grupos de presuntos com diferentes valores de pH inicial foi avaliada por Gratacós-Cubarsí *et al.* (2013). Estes autores descreveram uma maior actividade superóxido dismutase em presuntos de pH elevado, mas não observaram diferenças significativas entre a susceptibilidade oxidativa (TBARs induzido por ferro), a actividade glutathion peroxidase e o conteúdo em riboflavina de presuntos de pH baixo e elevado. A discrepância na influência dos valores de TBARs relacionou-se com a diferença na metodologia utilizada e as diferentes características dos presuntos analisados. Os presuntos de pH baixo e elevado elaboraram-se a partir de pernis seleccionados em matadouros comerciais enquanto os deste estudo procedem de uma mesma população de animais que se alimentaram com a mesma dieta e se produziram e sacrificaram nas mesmas condições.

Os processos proteolíticos contribuem para o desenvolvimento da textura dos presuntos, mediante a degradação da estrutura das proteínas musculares, bem como do aroma e sabor

curado, mediante a formação de aminoácidos e péptidos. A degradação das proteínas musculares relaciona-se com a actividade das aminopeptidases e catepsinas lisossomais. Os presuntos de pH₂₄SM elevado, mais afastado do pH óptimo de actuação das catepsinas lisossomais, apresentaram menor IP e conteúdo de NNP.

Actualmente, as recomendações sanitárias sobre a redução do teor de sal dos produtos alimentares supõem um problema na elaboração de presunto curado devido ao aumento de defeitos sensoriais. A presença de texturas defeituosas (adesividade e pastosidade) nos músculos internos relacionou-se com uma intensa degradação proteica de presuntos com valores de pH baixos e elaborados com concentrações salinas também baixas. Por outro lado, uma proteólise excessiva altera o sabor característico do produto, exagerando as notas amargas e metálicas (Virgili et al., 1995). Apesar da relação entre a intensidade dos fenómenos proteolíticos e a incidência de defeitos na fracção magra do presunto, ainda não foi possível estabelecer a fronteira entre uma proteólise elevada e excessiva.

4.5.5. Aminoácidos

Os aminoácidos livres são o principal produto de degradação das proteínas musculares em presunto curado e constituem uma importante proporção das fracções azotadas de baixo peso molecular. O conteúdo em aminoácidos dos presuntos analisados representou 8,10-16,91% do conteúdo proteico e 36,25-51,81% do NNP, sendo superior nos músculos interiores (60,70 a 63,42 mg/g) em relação ao músculo SM (40,20 mg/g). O perfil aminoacídico esteve maioritariamente composto por Glu, Lys, Leu e Ala e os Aas minoritários foram a Arg, Met, His, Tau, Trp e Asn. O conteúdo em Glu e Asp pode ter sido afectado pela desaminação total ou parcial da Gln e Asn, o que explicaria a ausência de quantidades notáveis de Gln no perfil analisado. O perfil de aminoácidos corresponde com o descrito por Toldrá e Flores (1998).

À excepção do Trp e Asn, o conteúdo de aminoácidos foi menor no músculo SM. Os músculos interiores apresentaram o mesmo conteúdo em Glu, Lys, Leu, Tyr, Arg, His e Tau, enquanto o conteúdo em Ala, Asp, Val, Pro, Ile, Thr, Ser, Phe, Gly e Met foi superior no músculo QF e o conteúdo em Asn foi inferior no músculo BF. Por outro lado, os três músculos em análise apresentaram um elevado conteúdo em Carnosina e baixo em Anserina.

Tabela 16 - Conteúdo (mg/g) em aminoácidos e dipéptidos dos músculos *biceps femoris* (BF), *quadriceps femoris* (QF) e *semimembranosus* (SM) (N=66)

		BF		QF		SM	
		Média	dp	Média	dp	Média	dp
Dipéptidos							
Carnosina	(Car)	7,08 ^a	± 0,14	6,57 ^b	± 0,14	6,45 ^b	± 0,14
Anserina	(Ans)	0,74 ^b	± 0,01	0,56 ^c	± 0,01	0,91 ^a	± 0,01
Aminoácidos							
Ácido glutâmico	(Glu)	6,74 ^a	± 0,12	7,13 ^a	± 0,12	3,32 ^b	± 0,12
Lisina	(Lys)	5,61 ^a	± 0,12	5,53 ^a	± 0,12	3,54 ^b	± 0,12
Leucina	(Leu)	4,83 ^a	± 0,10	4,79 ^a	± 0,10	3,51 ^b	± 0,10
Tirosina	(Tyr)	2,08 ^a	± 0,09	2,03 ^a	± 0,09	0,99 ^b	± 0,09
Arginina	(Arg)	1,95 ^a	± 0,12	1,95 ^a	± 0,12	0,80 ^b	± 0,12
Histidina	(His)	1,69 ^a	± 0,03	1,67 ^a	± 0,03	0,99 ^b	± 0,03
Taurina	(Tau)	0,98 ^a	± 0,02	1,02 ^a	± 0,02	0,58 ^b	± 0,02
Triptófano	(Trp)	0,63 ^b	± 0,02	0,63 ^b	± 0,02	0,95 ^a	± 0,02
Alanina	(Ala)	4,16 ^b	± 0,08	4,58 ^a	± 0,08	2,85 ^c	± 0,08
Valina	(Val)	3,56 ^b	± 0,07	3,83 ^a	± 0,07	2,45 ^c	± 0,07
Prolina	(Pro)	2,57 ^b	± 0,06	3,12 ^a	± 0,06	2,08 ^c	± 0,06
Isoleucina	(Ile)	2,73 ^b	± 0,06	3,03 ^a	± 0,06	1,93 ^c	± 0,06
Treonina	(Thr)	2,60 ^b	± 0,06	2,96 ^a	± 0,06	1,70 ^c	± 0,06
Serina	(Ser)	2,57 ^b	± 0,06	2,89 ^a	± 0,06	1,69 ^c	± 0,06
Fenilalanina	(Phe)	2,45 ^b	± 0,06	2,82 ^a	± 0,06	1,70 ^c	± 0,06
Glicina	(Gly)	2,04 ^b	± 0,04	2,30 ^a	± 0,04	1,35 ^c	± 0,04
Metionina	(Met)	1,53 ^b	± 0,04	1,70 ^a	± 0,04	0,91 ^c	± 0,04
Ácido aspártico	(Asp)	3,63 ^b	± 0,09	3,94 ^a	± 0,09	0,98 ^c	± 0,09
Asparagina	(Asn)	0,41 ^b	± 0,02	0,37 ^a	± 0,02	0,52 ^a	± 0,02

Valores médios obtidos através do teste Tukey.

Médias com letra diferente na mesma linha indicam diferenças significativas para $p < 0,001$.

Os resultados obtidos correspondem-se com os observados por Gratacós-Cubarsí et al. (2013), embora estes autores tenham descrito um conteúdo em Lys (15,83–17,82 mg/g), Arg (3,61–4,00 mg/g) e Asn (0,90–0,93 mg/g) superior nos músculos BF e SM de presuntos elaborados a partir de pernis comerciais com diferentes valores de pH₂₄SM. O conteúdo em HIS do músculo BF foi superior nos presuntos avaliados neste trabalho.

O perfil aminoacídico é considerado como parte responsável do sabor característico da carne e produtos cárneos, tal como a presença de determinados defeitos na fracção magra de presuntos curados através de um processo longo, como precipitados e película branca.

O pH₂₄SM e a concentração salina não exerceram influência sobre o conteúdo em Car e Tau dos músculos avaliados, nem sobre o conteúdo em Tyr e Trp dos músculos interiores (BF e QF). No entanto, ao diminuir o valor de pH₂₄SM aumentou a concentração de Tyr e Trp no músculo SM.

Tabela 17 - Coeficientes de correlação entre o pH₂₄SM e os aminoácidos dos músculos *biceps femoris* (BF), *quadriceps femoris* (QF) e *semimembranosus* (SM) (N=66)

	BF					QF					SM				
	r	R ²	R ² _{ajustado}	F	p	r	R ²	R ² _{ajustado}	F	p	r	R ²	R ² _{ajustado}	F	p
Asp	-0,49	0,24	0,23	20,4	<0,0001	-0,41	0,17	0,16	13,2	0,0006	-0,46	0,21	0,20	17,0	0,0001
Glu	-0,43	0,18	0,17	14,3	0,0003	-0,44	0,21	0,20	17,0	0,0001	-0,39	0,22	0,21	17,3	<0,0001
Asn	-0,71	0,50	0,49	63,4	<0,0001	-0,63	0,39	0,38	41,2	<0,0001	-0,73	0,53	0,52	70,2	<0,0001
Ser	-0,62	0,39	0,38	41,0	<0,0001	-0,57	0,33	0,31	30,8	<0,0001	-0,54	0,35	0,34	33,5	<0,0001
His	-0,49	0,24	0,23	20,1	<0,0001	-0,45	0,20	0,19	16,0	0,0002	-0,44	0,24	0,23	20,1	<0,0001
Gly	-0,53	0,28	0,27	24,9	<0,0001	-0,49	0,24	0,23	20,4	<0,0001	-0,37	0,17	0,16	13,1	0,0006
Thr	-0,62	0,38	0,37	39,6	<0,0001	-0,57	0,32	0,31	30,7	<0,0001	-0,58	0,39	0,38	39,8	<0,0001
Arg	-0,56	0,31	0,30	29,1	<0,0001	-0,58	0,34	0,32	32,3	<0,0001	-0,65	0,43	0,42	47,4	<0,0001
Ala	-0,52	0,27	0,26	23,8	<0,0001	-0,48	0,23	0,22	19,6	<0,0001	-0,42	0,22	0,21	17,7	<0,0001
Car			ns					ns					ns		
Tau			ns					ns					ns		
Ans	-0,28	0,08	0,07	5,5	0,0218	-0,31	0,10	0,08	7,00	0,0103	-0,30	0,13	0,12	9,6	0,003
Tyr			ns					ns			-0,42	0,26	0,24	20,9	<0,0001
Val	-0,57	0,33	0,32	31,4	<0,0001	-0,50	0,25	0,23	20,8	<0,0001	-0,53	0,35	0,34	32,9	<0,0001
Met	-0,62	0,39	0,38	40,8	<0,0001	-0,63	0,40	0,39	42,3	<0,0001	-0,62	0,45	0,44	50,1	<0,0001
Trp			ns					ns			-0,33	0,11	0,09	7,4	0,0087
Phe	-0,62	0,39	0,38	40,3	<0,0001	-0,59	0,34	0,33	33,7	<0,0001	-0,65	0,49	0,48	59,4	<0,0001
Ile	-0,63	0,40	0,39	42,2	<0,0001	-0,61	0,37	0,36	37,5	<0,0001	-0,63	0,46	0,45	52,0	<0,0001
Leu	-0,49	0,24	0,22	19,8	<0,0001	-0,55	0,30	0,29	27,4	<0,0001	-0,48	0,30	0,28	25,5	<0,0001
Lys	-0,40	0,16	0,15	12,0	0,0009	-0,38	0,14	0,13	10,9	0,0016	-0,38	0,19	0,18	14,2	0,0004
Pro	-0,45	0,21	0,19	15,7	0,0002	-0,49	0,24	0,23	20,2	<0,0001	-0,31	0,12	0,11	8,6	0,0048

O conteúdo em Anserina do músculo QF e em Carnosina do músculo SM sofreu uma ligeira influência da espessura de gordura (-0,255; $p < 0,05$). Ambos os dipéptidos são derivados da His com actividade antioxidante (Decker e Crumm, 1993), que reduzem o sabor a ranço e melhoram a estabilidade da cor (Chan e Decker, 1994), além de exercerem um efeito tampão no músculo esquelético. A sua elevada estabilidade nas condições de elaboração de presunto curado explicam o elevado conteúdo observado nos músculos em análise. A presença de dipéptidos foi descrita em músculos esquelético de diferentes espécies (Aristoy e Toldrá, 1998) e em exsudados de carne de frango embalado em atmosferas modificadas (Hortós *et al.*, 2012). Por outro lado, a proporção destes dipéptidos difere entre músculos, de acordo com o tipo metabólico. O conteúdo em Carnosina e Anserina é superior nos músculos glicolíticos (como o SM), onde a Carnosina pode alcançar valores de 3 mg/g e a Anserina de 0,18 mg/g, enquanto o conteúdo em Carnosina nos músculos oxidativos (como o QF) não alcança valores superiores a 0,2 mg/g (Aristoy e Toldrá, 1998). No entanto, as menores diferenças observadas entre o conteúdo muscular dos presuntos deste estudo não parecem ser consequência maioritária do metabolismo muscular.

O pH₂₄SM exerceu uma influência notável sobre conteúdo de Aas nos músculos estudados (Tabela 16), verificando-se uma clara tendência para o aumento do conteúdo em Aas ao diminuir o valor de pH₂₄SM. Os resultados vão de encontro à influência que o pH₂₄SM mostrou sobre o teor em NNP e IP. No músculo BF, a concentração salina exerceu uma ligeira influência sobre o conteúdo de Leu (-0,267; $p < 0,05$) e Phe (-0,272; $p < 0,05$) e a espessura de gordura sobre o conteúdo de Leu (-0,267; $p < 0,05$). A influência sobre estes aminoácidos pode ter implicações no aroma e sabor deste músculo, já que a Leu e a Phe se relacionaram com o sabor ácido (Toldrá, 1998; Virgili *et al.*, 1998) e Leu também se considera percussora de compostos voláteis.

Este trabalho descreve a relação existente entre o pH₂₄SM e o peso dos pernis avaliados e postula a possível influência da morfologia muscular no desenvolvimento do processo, que também pôde ser um factor adicional aos efeitos previamente descritos. Deste modo, também deve ser considerada a relação entre o peso das carcaças e dos presuntos com a velocidade de crescimento dos animais e a influência das condições *ante-mortem*. Os animais procedentes da mesma ninhada atingem o peso do sacrifício progressivamente, ao longo de várias semanas, devido à diferente velocidade de crescimento que apresentam. As diferenças no potencial de crescimento reflectem diferenças de metabolismo animal que irão influir sobre as características da matéria-prima, enquanto as diferenças em condições estabelecidas previamente ao sacrifício durante este período de tempo, como o grau de *stress* provocado pelas práticas comerciais e as diferenças nas condições ambientais, podem favorecer um aumento da variabilidade da matéria-prima.

5. Considerações finais

As características genéticas, (DU x LW x L) x DU, da população avaliada reflectiram-se na absorção e distribuição de sal dos músculos considerados. A espessura de gordura influenciou o conteúdo de gordura infiltrada do músculo BF e as diferenças no conteúdo em gordura muscular repercutiram-se na difusão salina e teor de humidade dos presuntos, o que condicionou as perdas de peso no final da etapa de repouso.

A produção de presuntos através de perdas de peso constante é relevante para o estudo da influência da matéria-prima, enquanto a comparação entre presuntos elaborados através de etapas de duração definida facilita a comparação entre processos.

Os critérios tecnológicos considerados ($\text{pH}_{24\text{SM}}$ e EG) na selecção dos presuntos deste estudo influenciaram a composição físico-química muscular e a regulação do processo de dessecação. A quantidade de sal absorvida relacionou-se com o valor de $\text{pH}_{24\text{SM}}$ no músculo BF e com a espessura de gordura no músculo SM.

A utilização de animais geneticamente seleccionados para o gene do halotano (HAL) permitiu discriminar a influência do $\text{pH}_{24\text{SM}}$ do efeito da condição PSE nas características dos presuntos elaborados.

Os valores de $\text{pH}_{24\text{SM}}$ relacionam-se com o peso, a morfologia muscular, o grau de oxidação e a degradação proteica e lipídica dos presuntos. Ao aumentar o valor de $\text{pH}_{24\text{SM}}$, diminuíram os índices proteolíticos e oxidativos dos músculos considerados e a degradação lipídica dos músculos internos.

A espessura de gordura influenciou as perdas de peso no final da etapa de repouso, o peso dos presuntos elaborados e limpos, os processos lipolíticos e a degradação das fracções azotadas dos músculos com maior teor de gordura. A semelhança dos valores de IA dos músculos, independentemente da influência da espessura de gordura, da composição em ácidos gordos e do metabolismo muscular, corrobora que os fosfolípidos são o substrato maioritário da lipólise.

O sal exerce uma influência menor sobre os fenómenos lipolíticos e oxidativos. O conteúdo em TBARs do músculo QF foi o único índice avaliado que esteve correlacionado com o teor de sal.

O peso comercial dos presuntos curados aumenta com os valores de $\text{pH}_{24\text{SM}}$ e com a espessura de gordura das carcaças, aumentando o lucro associado ao produto. No entanto, para a selecção dos intervalos de $\text{pH}_{24\text{SM}}$ e espessura de gordura apropriados é necessário

considerar também as características sensoriais do produto elaborado e a possível presença de defeitos de fabrico.

O conteúdo em aminoácidos dos presuntos aumentou ao diminuir o valor de $\text{pH}_{24\text{SM}}$. A presença de texturas defeituosas em presuntos com um elevado grau de proteólise pode-se limitar através do aumento do peso dos pernis.

Os aminoácidos responsáveis pela presença de precipitados na fracção magra dos presuntos ou filme branco na superfície de fatias embaladas em atmosferas modificadas (Tyr e Trp) não sofrem a influência da concentração de sal e dos critérios tecnológicos considerados nos músculos internos. No entanto, o conteúdo de ambos aminoácidos aumenta no músculo SM ao diminuir o valor de $\text{pH}_{24\text{SM}}$.

O sexo dos animais influenciou a degradação das fracções azotadas dos músculos QF e SM embora não se possa determinar se é uma consequência das características diferenciais da morfologia muscular ou do metabolismo dos animais. A utilização de pernis procedentes de machos inteiros não é habitual na produção de presuntos de porcos de raça branca pela possível presença do defeito sensorial denominado como odor sexual. No entanto, face ao compromisso voluntário do sector suinícola de limitar a partir de 1 de Junho de 2018 a castração habitual de leitões nos países da EU, é necessário avaliar o impacte da utilização de pernis procedentes de machos imunocastrados ou de linhas seleccionadas com menor incidência de odor sexual na qualidade do presunto curado.

Referências bibliográficas

Alasnier, C., and G. Gandemer. 2000. Activities of phospholipase A and lysophospholipases in glycolytic and oxidative skeletal muscles in the rabbit. *Journal Science Food Agriculture* 80: 698-702.

Andres, A. I., R. Cava, D. Martin, J. Ventanas, and J. Ruiz. 2005. Lipolysis in dry-cured ham: Influence of salt content and processing conditions. *Food Chemistry* 90: 523.

Andres, A. I., R. Cava, J. Ventanas, V. Thovar, and J. Ruiz. 2004. Sensory characteristics of Iberian ham: Influence of salt content and processing conditions. *Meat Science* 68: 45-51.

Andronikov, D., L. Gasperlin, T. Polak, and B. Zlender. 2013. Texture and quality parameters of Slovenian dry-cured ham *kraški pršut* according to mass and salt levels. *Food Technology and Biotechnology* 51: 112-122.

Antequera, T. et al. 1992. Lipid oxidative changes in the processing of Iberian pig hams. *Food Chemistry* 45: 105-110.

Aristoy, M. C., and F. Toldrá. 1998. Concentration of free amino acids and dipeptides in porcine skeletal muscles with different oxidative patterns. *Meat Science* 50: 327-332.

Arnau, J. 1991. Aportaciones a la calidad tecnológica del jamón curado e laborado por procesos acelerados. Doctoral thesis, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona.

Arnau, J., L. Guerrero, G. Casademont, and P. Gou. 1995. Physical and chemical changes in different zones of normal and PSE dry cured ham during processing. *Food Chemistry* 52: 63-69.

Arnau, J., L. Guerrero, and P. Gou. 1997. Effects of temperature during the last month of ageing and of salting time on dry-cured ham aged for six months. *Journal Science Food Agriculture* 74: 193-198.

Arnau, J., L. Guerrero, M. Hortós, and J. A. García-Regueiro. 1996. The composition of white film and white crystals found in dry-cured hams. *Journal Science Food Agriculture* 70: 449-452.

Arnau, J., L. Guerrero, E. Maneja, and P. Gou. 1992. Effect of pH and genetics on texture characteristics of dry-cured ham. In: 38th International Congress of Meat Science and Technology, Clermont-Ferrand, France. p 229-232.

Arnau, J., and J. M. Monfort. 1998. El jamón curado: Tecnología y análisis de consumo. In: 44th International Congress of Meat Science and Technology, Barcelona. p 75-86.

Barbieri, G. et al. 1992. Flavor compounds of dry cured ham. *Journal Agriculture Food Chemistry* 40: 2389-2394.

Barrett, A. J. 1987. The cystatins: A new class of peptidase inhibitors. *Trends Biochemical Science* 12: 193.

Brewer, M. S. 2004. Water-holding capacity. In: W. Jensen, C. Devine and M. Dikeman (eds.) *Encyclopedia of meat science* No. 1. p 242-249. Elsevier Academic Press Inc

Butz, R. G., T. N. Blumer, J. A. Christian, and S. H.E. 1974. Factors responsible for white film formation on cut surfaces of dry-cured hams. *Journal Food Science* 39: 516-519.

Candek-Potokar, M., G. Monin, and B. Zlender. 2002. Pork quality, processing, and sensory characteristics of dry-cured hams as influenced by Duroc crossing and sex. *Journal of Animal Science* 80: 988-996.

Candek-Potokar, M., B. Zlender, and M. Bonneau. 1997. Effets du poids et de l'âge à l'abattage sur la composition chimique du muscle long dorsal de porcs croisés Duroc × (Landrace × Large White). *Journées de la Recherche Porcine* 29: 391-396.

Carrapiso, A. I., F. Bonilla, and C. García. 2003. Effect of crossbreeding and rearing system on sensory characteristics of Iberian ham. *Meat Science* 65: 623-629.

Carrapiso, A. I., and C. García. 2005. Instrumental colour of Iberian ham subcutaneous fat and lean (*biceps femoris*): Influence of crossbreeding and rearing system. *Meat Science* 71: 284-290.

Carrapiso, A. I., J. Ventanas, and C. García. 2002. Characterization of the most odor-active compounds of Iberian ham headspace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 1996-2000.

Cava, R., J. M. Ferrer, M. Estévez, D. Morcuende, and F. Toldrá. 2002. Meat composition and proteolytic and lipolytic enzyme activities in muscle *longissimus dorsi* from Iberian and white pigs. In: 48th International Congress of Meat Science and Technology, Rome. p 554-555.

Cava, R., J. Ruiz, J. Ventanas, and T. Antequera. 1999. Oxidative and lipolytic changes during ripening of Iberian hams as affected by feeding regime: Extensive feeding and alpha-tocopheryl acetate supplementation. *Meat Science* 52: 165-172.

Chan, K. M., and E. A. Decker. 1994. Endogenous skeletal muscle antioxidants. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 34: 403-426.

Cilla, I. et al. 2006. Effect of different Duroc line sires on carcass composition, meat quality and dry-cured ham acceptability. *Meat Science* 72: 252-260.

Cilla, I., L. Martínez, J. A. Beltrán, and P. Roncalés. 2005. Factors affecting acceptability of dry-cured ham throughout extended maturation under "Bodega" Conditions. *Meat Science* 69: 789-795.

Ciobanu, D. et al. 2001. Evidence for new alleles in the protein kinase amp-activated, γ 3 subunit gene associated with low glycogen content in pig skeletal muscle and improved meat quality. *Genetics* 159: 1151-1162.

Conti, V. et al. 1997. Evaluation of cathepsin b levels in fresh thighs selected for cured raw ham production. *Meat Science* 46: 401-414.

Córdoba, J. J. et al. 1994. Evolution of free amino acids and amines during ripening of Iberian ham. *Journal Agriculture Food Chemistry* 42: 2296.

Coutron-Gambotti, C., and G. Gandemer. 1999. Lipolysis and oxidation in subcutaneous adipose tissue during dry-cured ham processing. *Food Chemistry* 64: 95.

Coutron-Gambotti, C., G. Gandemer, S. Rousset, O. Maestrini, and F. Casabianca. 1999. Reducing salt content of dry-cured ham: Effect on lipid composition and sensory attributes. *Food Chemistry* 64: 13-19.

Croall, D. E., and G. N. De Martino. 1991. Calcium-activated neutral protease (calpain) system: Structure, function, and regulation. *Physiological Reviews* 71: 813-847.

Decker, E. A., and A. D. Crum. 1993. Antioxidant activity of carnosine in cooked ground pork. *Meat Science* 34: 245-253.

Díaz, I. 1994. Modificaciones de la composición lipídica durante procesos tecnológicos del jamón curado. Doctoral Thesis, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona.

Dransfield, E. 1992. Modeling post-mortem tenderization iii: Role of calpain I in conditioning. *Meat Science* 31: 85.

Enfält, A.-C. et al. 2006. Effects of a second mutant allele (v199i) at *prkag3* (rn) locus on carcass composition in pigs. *Livestock Science* 99: 131-139.

Fernández, M. et al. 2007. Fatty acids compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications. *Food Chemistry* 101: 107-112.

Fernández, X., S. Gilbert, and J.-L. Vendevre. 2002. Effects of halothane genotype and pre-slaughter treatment on pig meat quality. Part 2: Physico-chemical traits of cured-cooked ham and sensory traits of cured-cooked and dry-cured hams. *Meat Science* 62: 439-446.

Flores, J., and R. Nieto. 1985. Composición y características de los lípidos de los tejidos adiposo y musculares de cerdo. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos* 25: 305-315.

Flores, M., C. C. Grimm, F. A. Toldrá, and A. M. Spanier. 1997. Correlations of sensory and volatile compounds of spanish 'Serrano' dry-cured ham as a function of two processing times. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 2178-2186.

Folch, J., M. Lees, and G. H. S. Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids of animal tissues. *Journal Biological Chemistry*: 226-497.

Forss, D. A. 1972. Odor and flavor compounds from lipids. In: A. D. Forss (ed.) Progress in the chemistry of fats and other lipids. p 181-258. Pergamon Press, London.

Gallo, L., P. Montobbio, P. Carnier, and G. Bittante. 1994. Breed and crossbreeding effects on weight, yield and quality of heavy Italian dry-cured hams. *Livestock Production Science* 40: 197-205.

Gandemer, G. 2002. Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science* 62: 309-321.

Gandemer, G. 2009. Dry cured ham quality as related to lipid quality of raw material and lipid changes during processing: A review. *Grasas y Aceites* 60: 297-307.

García-Rey, R. M., J. A. García-Garrido, R. Quiles-Zafra, J. Tapiador, and M. D. Luque de Castro. 2004. Relationship between pH before salting and dry-cured ham quality. *Meat Science* 67: 625-632.

García-Rey, R. M., R. Quiles-Zafra, and M. D. Luque de Castro. 2006. Relationships of genotype and slaughter time with the appearance and texture of dry-cured hams. *Food Chemistry* 94: 271-277.

García-Garrido, J. A., R. Quiles-Zafra, J. Tapiador, and M. D. Luque de Castro. 2000. Activity of cathepsin b, d, h and l in Spanish dry-cured ham of normal and defective texture. *Meat Science* 56: 1-6.

Gaull, G. E. 1990. Taurine in pediatric nutrition: A review and update. *Pediatrics* 83: 433-442.

Goll, D. E. et al. 1983. Role of muscle proteinases in maintenance of muscle integrity and mass. *Journal Food Biochemistry* 7: 137.

Goll, D. E., V. F. Thompson, H. Li, W. Wei, and J. Cong. 2003. The calpain system. *Physiological Reviews* 83: 731-801.

Gou, P., J. Comaposada, and J. Arnau. 2004. Moisture diffusivity in the lean tissue of dry-cured ham at different process times. *Meat Science* 67: 203-209.

Gou, P., L. Guerrero, and J. Arnau. 1995. Sex and crossbreed effects on the characteristics of dry-cured ham. *Meat Science* 40: 21-31.

Gratacós-Cubarsí, M. et al. 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: 3207-3214.

Guerrero, L., J. Gelabert, P. Gou, D. Guàrdia, and J. Arnau. 2000. Efecto de la disminución del contenido en sodio del jamón curado sobre sus propiedades sensoriales y reológicas. In: II Symposium Internacional del Jamón Curado, Barcelona. p 94-95.

Guerrero, L., P. Gou, and J. Arnau. 1999. The influence of meat pH on mechanical and sensory textural properties of dry-cured ham. *Meat Science* 52: 267-273.

Gutiérrez, J. B. 2008. Planteamientos tecnológicos del proceso de curación. In: J. B. Gutiérrez (ed.) Jamón curado: Aspectos científicos y tecnológicos. Perspectiva desde la unión europea. p 171-230. Diaz de Santos, Spain.

Hansen-Moller, J., L. Hinrichsen, and T. Jacobsen. 1997. Evaluation of peptides generated in Italian-style dry-cured ham during processing. *Journal Agricultural Food Chemistry* 45: 3123-3128.

Hardie, D. G., D. Carling, and M. Carlson. 1998. The AMP-activated/ snf1 protein kinase subfamily: Metabolic sensors of the eukaryotic cell. *Annual Review of Biochemistry* 67: 821-855.

Hernández, P., L. Zomeño, B. Ariño, and A. Blasco. 2004. Antioxidant, lipolytic and proteolytic enzyme activities in pork meat from different genotypes. *Meat Science* 66: 525-529.

Hinrichsen, L. L., and S. B. Pedersen. 1995. Relationship among flavor, volatile compounds, chemical changes and microflora in Italian-type dry-cured ham during processing. *Journal Agricultural Food Chemistry* 43: 2932-2940.

Hinrichsen, L. L., and S. B. Pedersen. 1995. Relationship among flavor, volatile compounds, chemical changes, and microflora in Italian-type dry-cured ham during processing. *Journal Agriculture Food Chemistry* 43: 2932-2940.

- Holmer, S. F. et al. 2009. The effect of pH on shelf-life of pork during aging and simulated retail display. *Meat Science* 82: 86-93.
- Hortós, M. 1995. Influencia de la maduración y condiciones del proceso tecnológico en los cambios de las fracciones nitrogenadas del jamón curado. Doctoral thesis, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona.
- Hortós, M., I. Díaz, and M. Gratacós-Cubarsí. 2012. Metabolitos relacionados con la vida útil de muestras de pollo envasado, Santiago de Compostela.
- Hortós, M., M. Gil, and C. Sarraga. 1994. Effect of calpain and cathepsin activities on myofibrils from longissimus porcine muscle during conditioning of normal and pse meat. *Science Aliments* 14: 503-515.
- Huang, L. S. et al. 2004. Genetic variations of the porcine *prkag3* gene in Chinese indigenous pig breeds. *Genetics Selection Evolution* 36: 481-486.
- Huff-Lonergan, E., and S. M. Lonergan. 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science* 71: 194-204.
- Hultin, H. O., Y. Feng, and D. W. Stanley. 1995. A re-examination of muscle protein solubility. *Journal of Muscle Foods* 6: 91-107.
- Ishibashi, N. et al. 1987. Bitterness of phenylalanine- and tyrosine- containing peptides. *Journal Agriculture Biological Chemistry* 51: 3309-3313.
- Jacquet, B., and L. Ollivier. 1971. Résultats d'une expérience de croisement piétrain x large white. In: *Journées de la Recherche Porcine en France*, Institut Technique du Porc, Paris. p 23-33.
- Jiménez-Colmenero, F., J. Ventanas, and F. Toldrá. 2010. Nutritional composition of dry-cured ham and its role in a healthy diet. *Meat Science* 84: 585-593.
- Josell, Å. et al. 2003. The influence of *rn* genotype, including the new *v199i* allele, on the eating quality of pork loin. *Meat Science* 65: 1341-1351.
- Kanner, J. 1994. Oxidative processes in meat and meat products: Quality implications. *Meat Science* 36: 169-189.
- Karlsson, A. et al. 1993. Muscle histochemical and biochemical properties in relation to meat quality during selection for increased lean tissue growth rate in pigs. *Journal of Animal Science* 71: 930-938.
- Kauffman, R. G. 2001. Meat composition. In: Y. H. Hui, W. I. Nip, R. W. Rogers and Y. O.A. (eds.) *Meat science and applications*. p 1-19. Marcel Dekker, Inc New York.
- Larrea, V., I. Hernando, A. Quiles, M. A. Lluch, and I. Pérez-Munuera. 2006. Changes in proteins during teruel dry-cured ham processing. *Meat Science* 74: 586-593.
- Lawrie, R. A. 1988. Chemical and biochemical constitution of muscle. In: A. R. Lawrie (ed.) *Meat science*. p 43-73. Pergamon Press.
- Lawrie, R. A. 1991. *Meat science*. Pergamon Press.
- Le Roy, P., J. Naveau, J. M. Elsen, and P. Sellier. 1990. Evidence for a new major gene influencing meat quality in pigs. *Genetics Research* 55: 33-40.
- Lebret, B. et al. 2002. Influence of outdoor rearing and indoor temperature on growth performance, carcass, adipose tissue and muscle traits in pigs, and on the technological and eating quality of dry-cured hams. *Meat Science* 62: 447-455.
- Lee, S. K., L. Mei, and E. A. Decker. 1997. Influence of sodium chloride on antioxidant enzyme activity and lipid oxidation in frozen ground pork. *Meat Science* 46: 349-355.
- Leistner, L. 1985. Hurdle technology applied to meat products of the shelf stable product and intermediate moisture food types. In: D. Simatos and J. L. Multon (eds.) *Properties of water in foods in relation to quality and stability*. p 309-329. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.
- Leseigneur-Meynier, A., and G. Gandemer. 1991. Lipid composition of pork muscle as related to metabolic types of fibres. *Meat Science* 29: 229-241.
- Lindahl, G. et al. 2004a. A second mutant allele (*v199i*) at the *prkag3* (*rn*) locus - i. Effect on technological meat quality of pork loin. *Meat Science* 66: 609-619.

- Lindahl, G. et al. 2004b. A second mutant allele (v199i) at the *prkag3* (*rn*) locus - ii. Effect on colour characteristics of pork loin. *Meat Science* 66.
- Lo Fiego, D. P., P. Macchioni, P. Santoro, G. Pastorelli, and C. Corino. 2005. Effect of dietary conjugated linoleic acid (CLA) supplementation on CLA isomers content and fatty acid composition of dry-cured parma ham. *Meat Science* 70: 285-291.
- López, M. O. et al. 1992. Volatile compounds of dry hams from Iberian pigs. *Meat Science* 31: 267-277.
- Martín, L., T. Antequera, J. Ventanas, R. Benítez-Donoso, and J. J. Córdoba. 2001. Free amino acids and other non-volatile compounds formed during processing of Iberian ham. *Meat Science* 59: 363-368.
- Matassino, D., A. Zullo, L. Ramuno, and E. Cosentino. 1987. Evaluation of some qualitative characteristics of seasoned ham in eight pig genetic types. *Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science* 38: 393-410.
- Melloni, E., F. Salamino, and B. Sparatore. 1992. The calpain-calpastatin system in mammalian cells: Properties and possible functions. *Biochimie* 74: 217-223.
- Milan, D. et al. 2000. A mutation in *prkag3* associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. *Meat Science* 288: 1248-1251.
- Monin, G. et al. 1997. Chemical and structural changes in dry-cured hams (Bayonne hams) during processing and effects of the dehairing technique. *Meat Science* 47: 29-47.
- Monin, G., and P. Sellier. 1985. Pork of low technological quality with a normal rate of muscle pH fall in the immediate *post-mortem* period : The case of the Hampshire breed. *Meat Science* 13: 49-63.
- Morales, R., L. Guerrero, X. Serra, and P. Gou. 2007. Instrumental evaluation of defective texture in dry-cured hams. *Meat Science* 76: 536-542.
- Morrissey, P. A., P. J. A. Sheehy, K. Galvin, J. P. Kerry, and D. J. Buckley. 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science* 49: 73-86.
- Motilva, M. J., F. Toldrá, M. C. Aristoy, and J. Flores. 1993a. Subcutaneous adipose tissue lipolysis in the processing of dry-cured ham. *Journal Food Biochemistry* 16: 323-335.
- Motilva, M. J., F. Toldrá, P. Nieto, and J. Flores. 1993b. Muscle lipolysis phenomena in the processing of dry-cured ham. *Food Chemistry* 48: 121-125.
- Mottram, D. S. 1998. Flavor formation in meat and meat products: A review. *Food Chemistry* 62: 415-424.
- Muriel, E., T. Antequera, J. Petron, A. I. Andres, and J. Ruiz. 2005. Stereospecific analysis of fresh and dry-cured muscle phospholipids from iberian pigs. *Food Chemistry* 90: 437-443.
- Nanni, C. L. 1996. Factors affecting suitability of pig meat for curing processes. In: 3rd International Symposium Mediterranean Pig, Benevento. p 247.
- Naveau, J. 1986. Contribution à l'étude du déterminisme génétique de la qualité de viande porcine. Héritabilité du rendement technologique napole. In: Journées Recherche Porcine France. p 265-276.
- Nawar, W. W. 1996. Lipids. In: O. R. Fennema (ed.) *Food chemistry*. p 139-244. Marcel Dekker Inc, New York.
- Nawar, W. W. 1998. Lipids. In: O. R. Fennema (ed.) *Food chemistry* p225-320. Marcel Dekker, New York.
- Neu, J., V. Shenoy, and R. Chakrabarti. 1996. Glutamine nutrition and metabolism: Where do we go from here? *FASEB Journal* 10: 829-837.
- Newton, K. G., and C. O. Gill. 1981. The microbiology of DFD fresh meats: A review. *Meat Science* 5: 223-232.
- Nishimura, T., and H. Kato. 1988. Taste of free amino acids and peptides. *Food Reviews International* 4: 175-194.
- Offer, G., and P. Knight. 1988. The structural basis of water-holding capacity in meat. Part 1: General principles and water uptake in meat processing. In: R. Lawrie (ed.) *Developments in meat science* No. 4. p 61-171. Elsevier Applied Science, New York.
- Otagiri, K., Y. Noshio, I. Shinoda, H. Fukui, and H. Okai. 1985. Studies on a model of bitter peptides including arginine, proline and phenylalanine residues i. Bitter taste of di- and

tripeptides, and bitterness increase of the model peptides by extension of the peptide chain. *Journal Agriculture Biological Chemistry* 49: 1019-1026.

Otto, G. et al. 2007. Associations of DNA markers with meat quality traits in pigs with emphasis on drip loss. *Meat Science* 75: 185-195.

Parolari, G. 1996. Review: Achievements, needs and perspectives in dry-cured ham technology: The example of parma ham. *Food Science and Technology International* 2: 69-78.

Parolari, G., R. Virgili, and C. Schivazzappa. 1994. Relationship between cathepsin B activity and compositional parameters in dry-cured hams of normal and defective texture. *Meat Science* 38: 117-122.

Parreño, M., R. Cussó, M. Gil, and C. Sárraga. 1998. Development of cathepsin B, L and H activities and cystatin-like activity during two different manufacturing processes for spanish dry-cured ham. *Food Chemistry* 49: 15-21.

Pearson, A. M., and R. B. Young. 1989. *Muscle and meat biochemistry*. Academic Press, San Diego.

Ramos, A. M., K. L. Glenn, T. V. Serenius, K. J. Stalder, and M. F. Rothschild. 2008. Genetic markers for the production of us country hams. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 125: 248-257.

Rico, E., F. Toldrá, and M. Flores. 1991. Effect of dry-curing process parameters on pork muscle cathepsin b, h and l. *Zeitschrift fur Lebensmittel Untersuchung und Forschung* 193: 541-544.

Ruiz-Carrascal, J., J. Ventanas, R. Cava, A. I. Andres, and C. Garcia. 2000. Texture and appearance of dry cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International* 33: 91-95.

Ruiz-Ramírez, J., J. Arnau, X. Serra, and P. Gou. 2005. Relationship between water content, nacl content, ph and texture parameters in dry-cured muscles. *Meat Science* 70: 579-587.

Ruiz-Ramírez, J., J. Arnau, X. Serra, and P. Gou. 2006. Effect of ph₂₄, 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: 185-194.

Ruiz, J., C. García, E. Muriela, A. I. Andrés, and J. Ventanas. 2002. Influence of sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science* 61: 347-354.

Ruiz, J., J. Ventanas, R. Cava, A. Andrés, and C. García. 1999. Volatile compounds of dry-cured iberian ham as affected by the length of the curing process. *Meat Science* 52: 19-27.

Russo, V. et al. 2000. Heritability of muscular cathepsin B activity in Italian large white pigs. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 33: 37-42.

Santoro, P., and D. P. Lo Fiego. 1987. The quality in Parma hams as related to halothane reactivity. In: P. V. Tarrant, G. Eikelenboom and G. Monin (eds.) CEC Seminar Evaluation and control of meat quality in pigs. p 429-436. Martinus Nijhoff Publishers, Dublin.

Sárraga, C., M. Gil, and J. A. García-Regueiro. 1993. Comparison of calpain and cathepsin (b, l and d) activities during dry-cured ham processing from heavy and light large white pigs. *Journal Science Food Agriculture* 62: 71-75.

Schivazzappa, C. et al. 2002. Analysis of raw meat to predict proteolysis in parma ham. *Meat Science* 60: 77-83.

Schivazzappa, C., R. Virgili, C. Cerati, and M. Degni. 1998. Effetto della tipologia suina di provenienza su alcune caratteristiche del prosciutto di parma. *Industria Conserve* 73: 110-116.

Sellier, P. 1982. Le choix de la lignée mâle du croisement terminal chez le porc 14èmes Journées Recherche Porcine. p 159-185, France.

Sellier, P., and G. Monin. 1994. Genetics of pig meat quality: A review. *Journal Muscle Foods* 5: 187-219.

Sellier, P., G. Monin, and A. Talmant. 1985. Proceedings of the European meeting of meat research workers No. 31. p 1985-1987.

Shahidi, F., L. J. Rubin, and L. A. D'Souza. 1986. Meat flavor volatiles: A review of the composition, technique of analysis and sensory evaluation. *Food Science Nutrition* 24: 141-243.

Shallenberger, R. S. 1993. Taste chemistry. p 64-73, 213-252. Blackie Academic & Professional, London.

Stalder, K. J., M. F. Rothschild, and S. M. Lonergan. 2005. Associations between two gene markers and indicator traits affecting fresh and dry-cured ham processing quality. *Meat Science* 69: 451-457.

Steane, D. E. 1986. The potential of the Duroc breed of pigs. *Research and Development in Agriculture* 3: 153-157.

Sturaro, E., L. Gallo, M. Noventa, and P. Carnier. 2008. The genetic relationship between enzymatic activity of cathepsin b and firmness of dry-cured hams. *Meat Science* 79: 375-381.

Szczesniak, A. S. 2002. Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference* 13: 215-225.

Tabilo, G., M. Flores, S. M. Fiszman, and F. Toldra. 1999. Postmortem meat quality and sex affect textural properties and protein breakdown of dry-cured ham. *Meat Science* 51: 255-260.

Toldrá, F. 1998. Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. *Meat Science* 49: 101-110.

Toldrá, F. 2006. *Meat: Chemistry and biochemistry*. CRC Press, Boca Raton (Florida).

Toldrá, F., M. C. Aristoy, and M. Flores. 2000. Contribution of muscle aminopeptidases to flavor development in dry-cured ham. *Food Research International* 33: 181-185.

Toldrá, F., and M. Flores. 1998. The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham. *Critical Reviews in Food Science* 34: 331-352.

Toldrá, F., E. Rico, and J. Flores. 1993. Cathepsin B, D, H and L activities in the processing of dry-cured ham. *Journal Science Food Agriculture* 62: 157-161.

Ventanas, J. 2006. *El jamón ibérico. De la dehesa al paladar*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.

Vestergaard, C. S., C. Schivazappa, and R. Virgili. 2000. Lipolysis in dry-cured ham maturation. *Meat Science* 55: 1-5.

Virgili, R. et al. 1998. Free amino acids and dipeptides in dry-cured ham. *Journal of Muscle Foods* 10: 119-130.

Virgili, R., G. Parolari, C. Schivazappa, C. Soresi Bordini, and M. Borri. 1995. Sensory and texture quality of dry-cured ham as affected by endogenous cathepsin b activity and muscle composition. *Journal Food Science* 60: 1183-1186.

Wheeler, T. L., S. D. Shackelford, and M. Koohmaraie. 2000. Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major pork muscles. *American Society of Animal Science* 78: 958-965.