

TESIS DOCTORAL

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y
MICROESTRUCTURAL DEL JAMÓN
CURADO DENOMINACIÓN DE
ORIGEN TERUEL**

Presentada por: Virginia Larrea Santos

Dirigida por: Isabel Pérez Munuera
Ma Ángeles Lluch Rodríguez
Valencia 2003

VIRGINIA LARREA SANTOS

TESIS DOCTORAL



2003

50µm

20µm

20µm



DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA



**DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
UNIVERSIDAD POLITECNICA DE VALENCIA**

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y MICROESTRUCTURAL
DEL JAMÓN CURADO DENOMINACIÓN DE ORIGEN
TERUEL**

TESIS DOCTORAL

Presentada por: Virginia Larrea Santos

Dirigida por: Isabel Pérez Munuera
M^a Ángeles Lluch Rodríguez

Valencia, 2003



**DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
UNIVERSIDAD POLITECNICA DE VALENCIA**

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y MICROESTRUCTURAL DEL
JAMÓN CURADO DENOMINACIÓN DE ORIGEN TERUEL**

Memoria presentada por VIRGINIA LARREA SANTOS, inscrita en el programa de doctorado de “Tecnología de Alimentos” del Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Politécnica de Valencia, para optar al grado de Doctor.

Trabajo realizado en el Departamento de Tecnología de Alimentos bajo la dirección de la Dr^a Isabel Pérez Munuera y la Dr^a M^a Ángeles Lluch Rodríguez.

Directores de Tesis

Dr^a Isabel Pérez Munuera

Dr^a M^a Ángeles Lluch Rodríguez

Autor

Virginia Larrea Santos

AGRADECIMIENTOS:

Quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas que han hecho posible la realización de esta tesis doctoral:

A la Dra. M^a Ángeles Lluch y a la Dra. Isabel Pérez, mis directoras de tesis, por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo, por todo el tiempo dedicado, y por todos los conocimientos y valores que me han transmitido.

A Empar Llorca, por estar ahí, “*mano a mano*”. Coincidir con ella en estos años lo ha hecho todo mucho más fácil. A Amparo Quiles, por su ayuda en microscopía, y por todos los buenos consejos que me ha dado.

A Ana Puig e Isabel Hernando, por su amistad y ayuda en estos años.

A M^a Carmen García, Isabel Moliner, Jordi Niñerola, M^a Carmen Lázaro y Lola Villanueva, por su colaboración en este trabajo. En general, a todos mis compañeros del Departamento.

A Manuel Planes, Juan Fayos y José Luis Moya del Servicio de Microscopía de la Universidad Politécnica de Valencia, por toda su ayuda.

A toda la gente del Departamento de Producción Animal de la Universidad de Gante, al Dr. Demeyer y el Dr. De Smet, por acogerme en su departamento y poner a mi disposición todos los medios necesarios para la realización de mi trabajo, a Katleen Raes, Tsang Tsey Chow, por todos sus consejos y en especial a Erik Claeys, por su dedicación y ayuda y por todo lo que me ha enseñado.

A la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) por la financiación del proyecto ALI96-1126 del cual forma parte esta Tesis Doctoral.

Al Vicerrectorado de Investigación y desarrollo de la Universidad Politécnica de Valencia, por la beca FPI y por la beca de estancia de personal investigador en el extranjero. A la Consellería de Cultura y Educación por la beca de estancia de investigadores en centros extranjeros.

A mi madre, por todo lo que ha hecho para que yo pudiera realizar mi trabajo, a mis hermanas. A mis amigos y toda mi familia, por su apoyo y por estar ahí. A Félix, por sus geniales ideas. A Juancho, por su apoyo en esta última etapa.

A mis padres

Tesis Doctoral

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y MICROESTRUCTURAL DEL JAMÓN CURADO DENOMINACIÓN DE ORIGEN TERUEL.

Autor:
Virginia Larrea Santos

Director/es:
Dra. Isabel Pérez Munuera
Dra. M^a Ángeles Lluch Rodríguez

Resumen:

El proceso de salazón y curado de jamones permite obtener uno de los productos cárnicos españoles de mayor tradición como es el jamón curado. El jamón de Teruel es un producto con Denominación de Origen en el que el proceso de secado y maduración se ve influenciado por las características climatológicas de la zona, que definen sus parámetros de calidad. En este trabajo se realiza la caracterización química y microestructural del jamón curado "D.O. Teruel", así como el estudio de la evolución de las proteínas y la grasa, y la difusión de la sal a lo largo del proceso de elaboración.

Las técnicas electroforéticas muestran que se produce una disminución en la fracción de proteínas sarcoplásmicas por insolubilización y drenaje tras el salado, y una proteólisis intensa en la maduración. Se produce también cierta degradación de algunas proteínas miofibrilares en esta etapa y se observa la aparición de compuestos de peso molecular 3-17 kDa. Las enzimas endógenas de la carne juegan un papel de primer orden en las modificaciones observadas; se ha encontrado una importante actividad enzimática residual (catepsinas L, B y D) durante el proceso y se puede considerar que las enzimas implicadas son responsables en gran medida de las reacciones de proteólisis que tienen lugar.

Los principales cambios en la fracción de lípidos se dan en los fosfolípidos y ácidos grasos libres. La hidrólisis de los ácidos grasos de los fosfolípidos, especialmente de los poliinsaturados, es el principal fenómeno observado. La fracción de triglicéridos, que es la mayoritaria, se mantiene prácticamente inalterada durante el proceso.

La microestructura de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del pernil muestra las características típicas del tejido muscular de la carne. En la etapa de salado ya se produce una importante degradación de las proteínas de los costámeros que unen las miofibrillas entre sí y especialmente éstas con el sarcolema. En el músculo *semimembranosus* el efecto es más drástico por el contacto directo que tiene este músculo con la sal. En el jamón curado se observan los cambios más importantes en la estructura con una acumulación importante de solutos en los espacios intercelulares. Los componentes lipídicos se liberan durante el proceso por degradación del tejido adiposo, y por coalescencia generan pequeñas gotas de grasa que contribuyen al carácter untuoso del jamón curado.

De la aplicación de la técnica SEM-EDX se confirma que la vía principal de penetración del NaCl durante el proceso de elaboración es a través de los músculos externos como el *semimembranosus* más que a través de la piel y grasa subcutánea que cubre otros músculos internos como el músculo *biceps femoris*.

Tesi Doctoral

CARACTERITZACIÓ QUÍMICA I MICROESTRUCTURAL DEL PERNIL CURAT DENOMINACIÓ D'ORIGEN TEROL.

Autor:
Virginia Larrea Santos

Director/es:
Dra. Isabel Pérez Munuera
Dra. M^a Ángeles Lluch Rodríguez

Resum:

El procés de salat i curat de pernils permet obtindre un dels productes carnis espanyols de major tradició com és el pernil curat. El pernil de Terol és un producte amb Denominació d'Origen en què el procés d'assecat i maduració es veu influenciat per les característiques climatològiques de la zona, que definixen els seus paràmetres de qualitat. En aquest treball es realitza la caracterització química i microestructural del pernil curat DO Terol. Així com l'estudi de l'evolució de les proteïnes i el greix, i la difusió de la sal al llarg del procés d'elaboració.

Les tècniques electroforètiques mostren que es produïx una disminució en la fracció de proteïnes sarcoplàsmiques per insolubilització després del salat, i una proteolisi intensa en la maduració. Es produïx també degradació de les proteïnes miofibrilars en aquesta etapa i s'observa l'aparició de compostos de pes molecular 3-17 kDa. Els enzims endògens de la carn juguen un paper de primer ordre en les modificacions observades; s'ha trobat una important activitat enzimàtica residual (catepsinas L, B i D) durant el procés i es pot considerar que els enzims implicats són responsables en gran mesura de les reaccions de proteolisi que tenen lloc.

Els principals canvis en la fracció de lípids es donen en els fosfolípids i àcids grassos lliures. La hidròlisi dels àcids grassos dels fosfolípids especialment dels poliinsaturats és el principal fenomen observat. La fracció de triglicèrids és la majoritària, encara que es manté pràcticament inalterada durant el procés.

La microestructura dels músculs *bíceps femoris* i *semimembranosus* del pernil mostra les característiques típiques del teixit muscular de la carn. En l'etapa de salat ja es produïx una important degradació de les proteïnes dels costàmers que unixen les miofibrilles entre sí i especialment aquestes amb el sarcolema. En el múscul *semimembranosus* l'efecte és més dràstic pel contacte directe que té aquest múscul amb la sal. En el pernil curat s'observa els canvis més importants en l'estructura amb una acumulació important de soluts en els espais intercel·lulars. Els components lipídics s'alliberen durant el procés per degradació del teixit adipós, i per coalescència generen xicotetes gotes de greix que contribuïxen al caràcter untuós del pernil curat.

De l'aplicació de la tècnica SEM-EDX es conclou que la via principal de penetració del NaCl durant el procés d'elaboració és a través dels músculs externs com el *semimembranosus* més que a través de la pell i greix subcutani que cobrix altres músculs interns com el múscul *bíceps femoris*.

Doctoral thesis

CHEMICAL AND MICROSTRUCTURAL CHARACTERIZATION OF DRY-CURED HAM “PROTECTED DENOMINATION OF ORIGIN TERUEL”.

Author:

Virginia Larrea Santos

Director/s:

Dra. Isabel Pérez Munuera

Dra. M^a Ángeles Lluch Rodríguez

Summary:

Dry-cured ham is one of the most important Spanish products, elaborated by a traditional method. In fact, “Protected Designation of Origin” Teruel cured ham is a product in which ripening is directly affected by the climatological characteristics of the Teruel area. This fact determines its quality parameters. The aim of this thesis is the Teruel cured ham chemical and microstructural characterization and the study of the evolution of proteins, fat and NaCl during Teruel cured ham processing.

Electrophoresis shows a decrease in the sarcoplasmic proteins because of insolubilization after salting. An intense proteolysis during ripening is also observed. This technique shows as well a degradation in myofibrillar proteins during salting, and an increasing of the low molecular weight products (3-17 kDa). Some meat endogenous enzymes (mainly cathepsins B, L and D) play an important role in the proteolysis; recovered enzymatic activity has been found during the process and it can be considered that the implicated enzymes are responsible of the proteolysis reactions.

Main changes in lipids take place in phospholipid and free fatty acids fractions hydrolysis of polyunsaturated coming from phospholipid is the main event observed. Triglycerides fraction is the majority one, but their fatty acid composition do not vary significantly throughout the process.

Microstructural characterization of *biceps femoris* and *semimembranosus* muscles in green ham shows the typical structure of the muscular tissue in raw meat, organized in myofibrilles. Salting produces an important degradation of costamers proteins; costamers bound myofibrilles each others and this ones with sarcolemma. The effect of salting in *semimembranosus* is bigger because of this muscle is in directly contact with salt. The structure of dry-cured ham shows an accumulation of solutes in the intercellular spaces. During processing, the adipose tissue is also degraded and the lipid compounds are liberated; fat drops are generated by coalescence contributing to the typical sensorial characteristics of the Teruel cured ham.

SEM-EDX technique shows that NaCl diffuses mainly through external muscles as *semimembranosus*; another less important way for salt diffusion could be through skin and subcutaneous fat by the *biceps femoris*.

ÍNDICE

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| I. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| <u>I.1 EL TEJIDO MUSCULAR. CAMBIOS BIOQUÍMICOS Y ESTRUCTURALES EN EL MÚSCULO POSTMORTEM.....</u> | 1 |
| I.1.1. ESTRUCTURA DEL TEJIDO MUSCULAR. EL MÚSCULO ESQUELÉTICO..... | 1 |
| I.1.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA CARNE..... | 4 |
| I.1.2.1. <u>Compuestos nitrogenados de la carne.....</u> | 6 |
| I.1.2.1.a Proteínas del aparato contráctil o miofibrilares..... | 6 |
| I.1.2.1.b. Proteínas solubles o sarcoplásmicas..... | 7 |
| I.1.2.1.c. Proteínas insolubles o del estroma..... | 8 |
| I.1.2.2. <u>Lípidos de la carne.....</u> | 8 |
| I.1.2.3. <u>Hidratos de carbono.....</u> | 10 |
| I.1.2.4. <u>Vitaminas y minerales en la carne.....</u> | 11 |
| I.1.3. CAMBIOS BIOQUÍMICOS EN EL MÚSCULO POSTMORTEM..... | 11 |
| I.1.4. CAMBIOS ESTRUCTURALES EN EL MÚSCULO POSTMORTEM..... | 14 |
| <u>I.2. LA CARNE DE CERDO.....</u> | 16 |
| I.2.1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS..... | 16 |
| I.2.2. LOS PRODUCTOS CÁRNICOS..... | 17 |
| I.2.2.1. <u>Productos cárnicos curados.....</u> | 17 |
| I.2.2.2. <u>El jamón curado.....</u> | 18 |
| I.2.2.3. <u>Efecto de las sales de curado en el jamón.....</u> | 20 |
| I.2.2.4. <u>Papel de las enzimas en los procesos de curado.....</u> | 27 |

| | |
|---|-----------|
| I.3. <u>EL JAMÓN CURADO DENOMINACIÓN DE ORIGEN TERUEL..</u> | 30 |
| I.3.1. LA DENOMINACIÓN DE ORIGEN TERUEL..... | 30 |
| I.3.1.1. <u>Historia</u> | 30 |
| I.3.1.2. <u>El consejo Regulador</u> | 32 |
| I.3.2. CONDICIONES DE PRODUCCIÓN DE JAMÓN “D.O. TERUEL” | 33 |
| I.3.2.1. <u>La provincia de Teruel</u> | 33 |
| I.3.2.2. <u>El proceso de elaboración</u> | 34 |
| | |
| II. OBJETIVOS Y PLAN EXPERIMENTAL..... | 41 |
| | |
| II.1. <u>OBJETIVOS</u>..... | 41 |
| | |
| <u>PLAN EXPERIMENTAL</u>..... | 42 |
| | |
| III. MATERIAL Y MÉTODOS..... | 45 |
| | |
| III.1. <u>MATERIA PRIMA</u>..... | 45 |
| | |
| <u>METODOLOGÍA</u>..... | 48 |
| III.2.1. HUMEDAD..... | 48 |
| III.2.1.1. <u>Humedad en el Tejido Muscular</u> | 48 |
| II.2.1.2. <u>Humedad en el Tejido Adiposo Asociado (Grasa Subcutánea)</u> | 48 |

| | |
|--|----|
| III.2.2. CENIZAS..... | 48 |
| III.2.3. CLORUROS..... | 48 |
| III.2.4. PROTEÍNAS..... | 51 |
| III.2.4.1. <u>Extracción de proteínas</u> | 51 |
| III.2.4.2. <u>Cuantificación de proteínas por el método N-Kjeldahl</u> | 52 |
| III.2.4.3. <u>Electroforesis SDS-PAGE</u> | 53 |
| III.2.4.4. <u>Actividad enzimática</u> | 62 |
| III.2.5. LÍPIDOS..... | 67 |
| III.2.5.1. <u>Extracción y cuantificación por el método Soxhlet</u> | 67 |
| III.2.5.2. <u>Análisis de ácidos grasos por Cromatografía de Gases</u> | 67 |
| III.2.5.3. <u>Índices de Acidez, de Yodo y de Peróxidos</u> | 69 |
| III.2.6. TÉCNICAS MICROSCÓPICAS..... | 70 |
| III.2.6.1. <u>Microscopía Electrónica de Barrido a bajas Temperaturas (Cryo-SEM)</u> | 71 |
| III.2.6.2. <u>Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)</u> | 71 |
| III.2.6.3. <u>Microscopía Óptica (LM)</u> | 72 |
| III.2.6.4. <u>Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)</u> | 72 |
| III.2.6.5. <u>Microanálisis por Dispersión de Energías de rayos X (EDX)</u> .. | 73 |
| III.2.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS..... | 74 |

| | |
|---|------------|
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 75 |
| <u>IV.1. EVOLUCIÓN DE LOS PRINCIPALES PARÁMETROS QUÍMICOS.....</u> | 76 |
| IV.1.1. EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO EN PROTEÍNAS, GRASA Y AGUA | 77 |
| IV.1.2. EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO EN CENIZAS Y EN CLORUROS..... | 81 |
| <u>IV.2. ESTUDIO DE LA FRACCIÓN PROTEICA. PROTEOLISIS.....</u> | 85 |
| IV.2.1. EVOLUCIÓN DEL NITRÓGENO TOTAL Y SOLUBLE..... | 85 |
| IV.2.2. PERFILES ELECTROFORÉTICOS DE LAS FRACCIONES PROTEICAS TOTAL, SARCOPLÁSMICA Y MIOFIBRILAR..... | 87 |
| IV.2.2.1. <u>La fracción de proteínas sarcoplásmicas.....</u> | 94 |
| IV.2.2.2. <u>La fracción de proteínas miofibrilares.....</u> | 100 |
| IV.2.2.3. <u>La fracción de compuestos de peso molecular 3-17 kDa.....</u> | 107 |
| IV.2.3. LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA..... | 112 |
| IV.2.3.1. <u>Actividad enzimática catepsinas B + L y catepsina B.....</u> | 113 |
| IV.2.3.2. <u>Actividad enzimática catepsina D.....</u> | 117 |
| IV.2.3.3. <u>Actividad enzimática piroglutamilaminopeptidasa I y dipeptidilpeptidasa IV.....</u> | 119 |
| <u>IV.3. ESTUDIO DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA. LÍPOLISIS.....</u> | 123 |
| IV.3.1. LOS COMPONENTES LIPÍDICOS DE LA GRASA INTRAMUSCULAR..... | 123 |
| IV.3.1.1. <u>Composición en ácidos grasos de la grasa intramuscular.....</u> | 124 |
| IV.3.1.1.a Composición en ácidos grasos de la fracción de triglicéridos..... | 126 |

| | |
|---|------------|
| IV.3.1.1.b. Composición en ácidos grasos de la fracción de fosfolípidos..... | 127 |
| IV.3.1.1.c. Composición en ácidos grasos de la fracción de ácidos grasos libres..... | 128 |
| IV.3.1.2. <u>Evolución de las diferentes fracciones lipídicas de la grasa intramuscular durante el proceso de elaboración de jamón curado DO Teruel</u> | 134 |
| IV.3.2. COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LA GRASA ASOCIADA AL MÚSCULO <i>BICEPS FEMORIS</i> | 139 |
| IV.3.3. ÍNDICES DE CALIDAD DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA..... | 141 |
| IV.3.3.1. <u>Índice de acidez, de peróxidos y de yodo en la grasa intramuscular</u> | 141 |
| IV.3.3.2. <u>Índices de acidez, de peróxidos y de yodo en la grasa asociada al músculo <i>biceps femoris</i></u> | 148 |
| IV.4. <u>CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL</u> | 150 |
| IV.4.1. CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (Cryo-SEM y SEM)..... | 151 |
| IV.4.1.a. Cryo-Microscopía Electrónica de Barrido..... | 151 |
| IV.4.1.b. Microscopía Electrónica de Barrido..... | 169 |
| IV.4.2. CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL POR MICROSCOPIA ÓPTICA (LM)..... | 177 |
| IV.4.3. CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM)..... | 181 |

| | |
|---|------------|
| <u>IV.5. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SALINA DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE JAMÓN CURADO DO TERUEL</u>..... | 187 |
| IV.5.1. ANÁLISIS DE CLORURO SÓDICO POR POTENCIOMETRÍA..... | 187 |
| IV.5.2. MICROANÁLISIS POR EDX..... | 194 |
| IV.5.2.1. <u>Microanálisis de cloruros por SEM-EDX</u> | 194 |
| III.5.2.2. <u>Estudio comparativo de la determinación de Cl⁻ por Microanálisis SEM-EDX, y por el método potenciométrico</u> | 200 |
| IV.5.2.3. <u>Estudio de los cocientes atómicos Cl / P+S por SEM-EDX</u> ... | 202 |
| IV.5.2.4. <u>Estudio comparativo de la determinación de los cocientes atómicos Cl⁻ / P+S por SEM-EDX y del NaCl por potenciometría</u> | 208 |
| V. CONCLUSIONES | 211 |
| VI. BIBLIOGRAFÍA | 215 |
| VII. ABREVIATURAS | 231 |
| VIII. ANEXOS | 233 |

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

I.1 EL TEJIDO MUSCULAR. CAMBIOS BIOQUÍMICOS EN EL MÚSCULO POSTMORTEM

I.1.1. ESTRUCTURA DEL TEJIDO MUSCULAR. EL MÚSCULO ESQUELÉTICO

Para comprender bien los cambios que se producen en la carne después del sacrificio, es importante conocer la estructura del músculo y el mecanismo de la contracción. Existen tres tipos diferentes de musculatura en los animales: el músculo estriado voluntario o músculo esquelético, el músculo estriado involuntario o músculo cardiaco y el músculo liso o involuntario de las vísceras y vasos sanguíneos.

Un músculo esquelético está formado por células largas, estrechas y multinucleadas denominadas fibras. Estas se encuentran separadas unas de otras por una envoltura de tejido conjuntivo denominada *endomisio*, constituido fundamentalmente por colágeno. Las fibras se agrupan formando haces que se unen para formar el músculo. El *perimisio* es la capa de tejido conjuntivo que rodea cada haz de fibras y el *epimisio* es otra capa gruesa del mismo tejido que envuelve al conjunto de haces. En los extremos del músculo, el *epimisio* finaliza en tendones que se unen al esqueleto (Figura I.1).

La superficie externa de la fibra muscular recibe el nombre de sarcolema y está compuesta por tres capas: el tejido conjuntivo (*endomisio*), una capa intermedia amorfa constituida por mucopolisacáridos y la membrana plasmática interna de carácter lipoproteico.

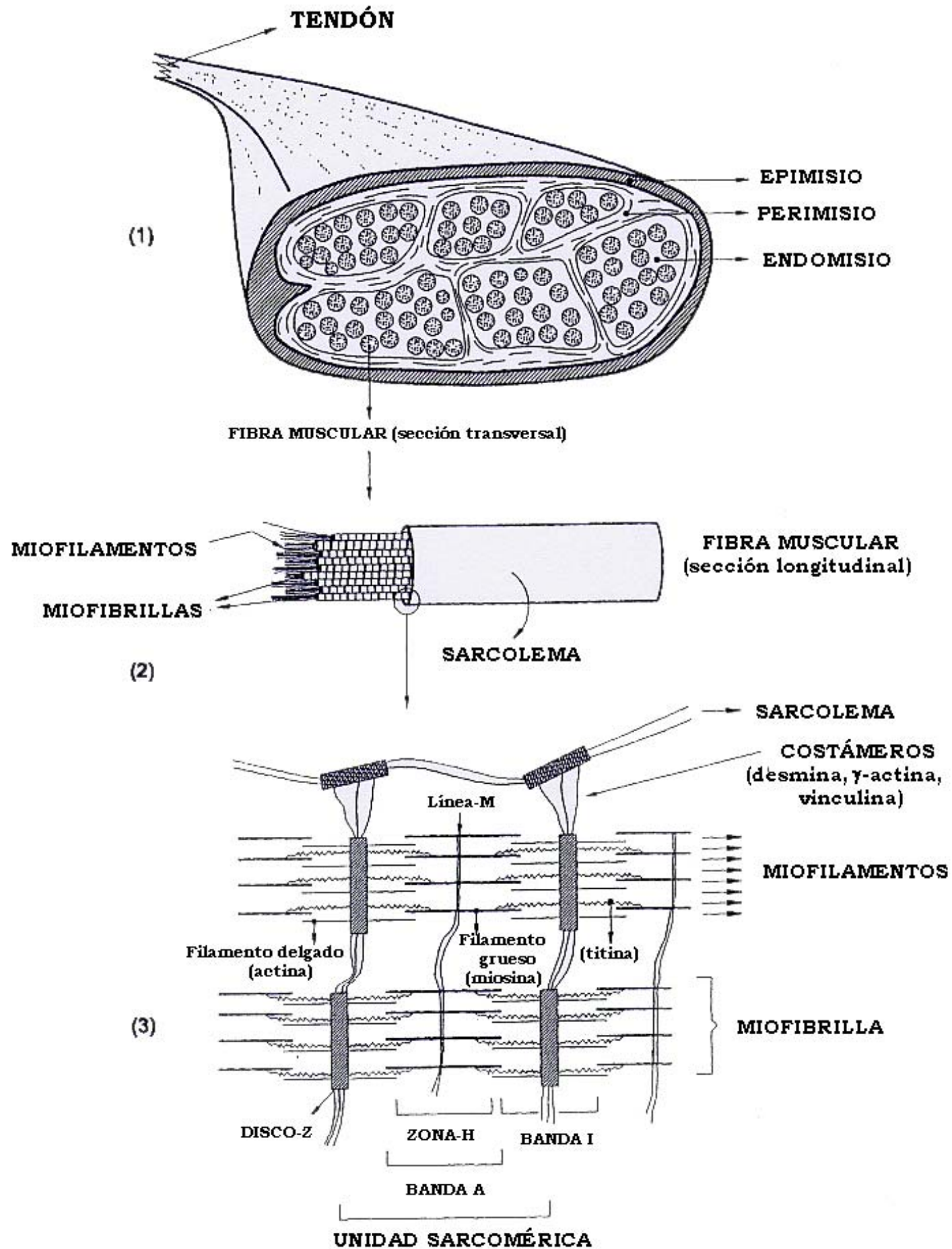


FIGURA I.1. Representación esquemática del músculo esquelético. (1) Sección transversal de un músculo esquelético en el que se señala la localización del tejido conjuntivo: epimisio, perimisio y endomisio. (2) Fibra muscular en sección longitudinal compuesta por miofibrillas. (3) Constituyentes proteicos de la miofibrilla, organizada en unidades ultraestructurales o sarcómeros (Lluch et al., 2001).

El plasma celular se denomina sarcoplasma, un material semifluido que contiene proteínas solubles y pequeñas partículas de glucógeno, inclusiones de grasa y mitocondrias. El interior de la fibra contiene las miofibrillas (1 y 2 μm de diámetro) ordenadas longitudinalmente, que conforman el aparato contráctil y son responsables del carácter estriado del músculo. Según la relación miofibrillas y sarcoplasma se diferencian dos tipos de fibras: las blancas, ricas en miofibrillas, pobres en sarcoplasma, de contracción intensa y rápida y agotamiento rápido, y las rojas, pobres en miofibrillas, ricas en sarcoplasma, de contracción lenta y sostenida y agotamiento lento (Belitz et al., 1997). La fibra muscular suele ser polinucleada.

En el músculo esquelético existe la formación de estrías transversales características, debidas a la sucesión regular de bandas anisótropas, birrefringentes a la luz polarizada (bandas A), y bandas isotropas (bandas I) (Belitz et al., 1997). En el centro de las bandas I se observa, perpendicularmente a la dirección de las fibras, los discos Z más oscuros. Del mismo modo, por el centro de las bandas A oscuras discurren las zonas H más claras, en cuya mitad se encuentra a su vez una línea oscura conocida como línea M. Se define el sarcómero como la unidad contráctil, que está comprendido entre dos discos Z consecutivos y está constituido por los filamentos gruesos y delgados. Los filamentos gruesos están formados por la proteína miosina, se extienden a lo ancho de las bandas A, y se mantienen en la posición correcta con una ordenación hexagonal probablemente por acción de la línea M (Figura I.1). Los filamentos delgados están constituidos fundamentalmente por actina; se prolongan desde los discos Z, a través de la banda I, hasta el límite de la zona H en la banda A. Los filamentos se deslizan unos sobre otros durante la contracción muscular produciendo un acortamiento en la distancia entre los discos Z. Todos los filamentos en el interior celular están bañados por el sarcoplasma en el cual abundan enzimas hidrolasas, glicolíticas y mioglobina (Cassens, 1994).

La estructura del tejido muscular proporciona información sobre las propiedades físicas de la carne e influye en la calidad. El efecto de las enzimas endógenas, junto con los cambios de pérdida de elasticidad y el incremento de la ternera durante el almacenamiento postmortem de distintos tipos de carne, fueron en un principio los objetivos principales de la caracterización microestructural (Aguilera, 1999).

El músculo cardíaco es similar al esquelético en la estructura estriada, aunque presenta un número mayor de mitocondrias. Por otra parte la célula de la musculatura lisa posee un núcleo en posición central y miofibrillas ópticamente homogéneas, de modo que no presentan estriamiento transversal. Este tipo de células se presenta en los músculos de contracción involuntaria (con excepción del corazón) tales como los del intestino, mucosas, bazo, nódulos linfáticos y epidermis.

I.1.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA CARNE

La composición de la carne es muy variable y depende tanto de factores intrínsecos como extrínsecos. Los principales componentes de la carne son agua (65-80%), proteína (16-22%), grasa (3-13%), cenizas (1-1.5%), y otras sustancias minoritarias como sustancias nitrogenadas no proteicas (aminoácidos libres, péptidos, nucleótidos, creatina), carbohidratos, ácido láctico, minerales y vitaminas. En la tabla I.1 se presenta la composición química de la carne para distintas especies y distintas piezas (Belitz *et al.*, 1997).

Tabla I.1. Composición química media de la carne en porcentaje (Belitz & Grosch, 1997).

| Composición química aproximada de la carne (% b.h.) | | | | | |
|--|------------|------|----------|-------|---------|
| Animal | Pieza | Agua | Proteína | Grasa | Cenizas |
| Cerdo | Paleta | 74,9 | 19,5 | 4,7 | 1,1 |
| | Pernil | 75,3 | 21,1 | 2,4 | 1,2 |
| | Costillas* | 54,5 | 15,2 | 29,4 | 0,8 |
| | Jamón | 75,0 | 20,2 | 3,6 | 1,1 |
| | Tripa | 40,0 | 11,2 | 48,2 | 0,6 |
| Vacuno | Pierna | 76,4 | 21,8 | 0,7 | 1,2 |
| | Costillas* | 74,6 | 22,0 | 2,2 | 1,2 |
| Pollo | Muslos | 73,3 | 20,0 | 5,5 | 1,2 |
| | Pechuga | 74,4 | 23,3 | 1,2 | 1,1 |

* Con tejido adiposo adherido.

Entre los factores intrínsecos que influyen en la composición de la carne están la especie, la raza, edad, sexo y zona anatómica estudiada, entre otros. La edad influye en la proporción de grasa y proteínas, ya que al avanzar la edad, mayor es la grasa acumulada y menor el contenido en colágeno. El sexo afecta al contenido de grasa intramuscular, ya que es mayor en las hembras que en los machos. Entre los factores extrínsecos el más importante es la alimentación, influyendo en las cualidades de la carne obtenida, pues si se aumenta en la dieta el contenido de hidratos de carbono o de grasa, aumenta el engrasamiento de las canales (Ordóñez et al., 1998).

El agua de la canal se encuentra principalmente en el tejido muscular magro; el tejido adiposo contiene poca agua. Muchas de las propiedades físicas de la carne como el color, la textura y la firmeza dependen en parte de la capacidad de retención de agua de la carne, que está muy relacionada con el pH final de la misma. El contenido en agua de la carne de cerdo es de aproximadamente 75% siendo muy similar al de otras especies como pollo y vacuno (Fennema et al., 1992; Primo et al., 1997).

I.1.2.1. Compuestos nitrogenados de la carne

Los compuestos nitrogenados de la carne están constituidos por proteínas, también encontramos aminas, compuestos guanidínicos, compuestos de amonio cuaternario, aminoácidos libres y péptidos. Las proteínas representan el componente más abundante de la materia seca del músculo y desempeñan un papel fundamental en las funciones fisiológicas “in vivo”, en los cambios que se originan después de la muerte del animal y en las propiedades de la carne para su consumo en fresco y la industrialización.

EL contenido de proteínas de la carne de cerdo es del 20%, muy parecido también al contenido de proteínas en pollo y vacuno. Las proteínas se pueden clasificar atendiendo a su solubilidad en tres grupos (Primo et al., 1997; Ordoñez et al., 1998):

- Proteínas del aparato contráctil (proteínas miofibrilares), extraíbles en su mayor parte con disoluciones salinas concentradas (miosina, actina, tropomiosina, troponina, etc).

- Proteínas solubles (proteínas sarcoplasmáticas), extraíbles con agua o disoluciones salinas diluidas (mioglobina, enzimas).

- Proteínas insolubles (proteínas del tejido conjuntivo y proteínas de los orgánulos).

I.1.2.1.a. Proteínas del aparato contráctil o miofibrilares

Se conocen unas 20 proteínas miofibrilares diferentes. Las más abundantes son miosina y actina, que suponen el 65-70% del total. El resto son las proteínas tropomiosina y troponina, importantes para la contracción, y distintas proteínas del citoesqueleto. Son las responsables de la estructura muscular y de la transformación de la energía química en energía mecánica, durante los fenómenos de contracción y relajación muscular. Tras el sacrificio producen el *rigor mortis* y la exudación.

La actina es el principal componente de los filamentos delgados. Cuando se encuentra en forma monomérica se denomina actina G que al polimerizarse forma filamentos de actina F. La forma filamentosa de la actina forma el esqueleto del filamento delgado y aloja a la tropomiosina y al complejo troponina. Se combina con la miosina para formar el complejo actomiosina que interviene en el mecanismo de contracción-relajación muscular. La miosina es una proteína con una parte filamentosa, la cola y el cuello, y una parte globular, las dos cabezas de miosina que tienen capacidad para unirse a la actina y al ATP. Estas cabezas son responsables de la actividad enzimática (ATPasa) y de su capacidad para interaccionar con la actina de los filamentos delgados. En el filamento delgado también se encuentran la tropomiosina y el complejo troponina, ambos regulan la contracción muscular y cada una representa el 5% de las proteínas miofibrilares. Entre las proteínas miofibrilares hay una serie de ellas del citoesqueleto, que contribuyen a mantener el armazón estructural en el que funcionan las proteínas contráctiles de la fibra muscular. Entre estas destacan la conectina o titina (10% de las proteínas miofibrilares), la nebulina (4%) que constituyen la denominada línea N₂, la α -actinina o proteína mayoritaria de los discos Z, y las proteínas de los costámeros (desmina, γ -actina y vinculina) (Fennema et al., 1992; Ordoñez et al., 1998).

I.1.2.1.b. Proteínas solubles o sarcoplásmicas

Las proteínas sarcoplásmicas constituyen un 20-30% del total y en ellas se incluyen enzimas, pigmentos (mioglobina) y albúminas, que se extraen con agua o disoluciones salinas diluidas (0.5%). La mioglobina, que se localiza principalmente en el músculo cardíaco y estriado, es una proteína conjugada hemoglobular monomérica de una masa molecular de 16 kDa. La cantidad de mioglobina muscular se ve afectada por factores genéticos, por la edad, la dieta del animal, el tipo de fibra muscular, la especie y el ejercicio. En cerdos se observa un descenso en el contenido de mioglobina cuando los animales tienen una deficiencia en hierro, también se ha descrito un aumento cuando los animales poseen una deficiencia en vitamina E y por el ejercicio (Belitz et al., 1997).

La mayor parte de las proteínas solubles son enzimas, principalmente enzimas necesarias para la glicolisis y el ciclo de las pentosas-fosfato. También existe una serie de enzimas relacionadas con el metabolismo del ATP, como la creatin-kinasa y la ADP-desaminasa. Además, existen enzimas a las que se les atribuye el envejecimiento de la carne en los fenómenos postmortem (Parreño et al., 1994), como son las proteinasas musculares, especialmente calpaínas y proteinasas lisosomales (catepsinas B, H, L, etc.).

I.1.2.1.c. Proteínas insolubles o del estroma

Las proteínas del estroma representan la fracción insoluble proteica de las proteínas musculares. Están constituidas principalmente por proteínas del tejido conjuntivo y se distribuyen por todo el organismo animal, formando parte del esqueleto y de la estructura de órganos, tendones, nervios, resto de membranas y la porción insoluble del aparato contráctil.

Sus principales componentes son el colágeno, la elastina y la reticulina. Son proteínas de valor nutritivo, capacidad de retención de agua y poder emulsionante menores que las anteriormente descritas (Ordoñez et al., 1998).

I.1.2.2. Lípidos de la carne

La fracción lipídica es la parte más variable en carnes y se encuentra en el tejido adiposo subcutáneo, en el interior de la cavidad corporal o incluida en el tejido intermuscular e intramuscular. Además del papel fisiológico en el metabolismo, la distribución y el contenido en ácidos grasos influye en la palatabilidad. En las grasas animales predominan los lípidos neutros que se localizan, en forma de triglicéridos, en los depósitos de tejido adiposo y en la grasa intramuscular formando el veteado o marmorización. Los fosfolípidos y otros lípidos polares ejercen funciones importantes de estructura en las membranas celulares.

El cerdo y el cordero contienen una mayor proporción grasa con un 5.25 y un 6%, respectivamente, y un mayor porcentaje de lípidos neutros. En esta fracción apolar, predominan los triglicéridos, aunque se encuentran pequeñas cantidades de mono y diglicéridos, ácidos grasos libres, colesterol y sus ésteres y algunos hidrocarburos.

La fracción polar está compuesta principalmente por fosfolípidos. Los ácidos grasos saturados tienen de 12 a 20 átomos de carbono y en la carne predominan los ácidos palmítico, esteárico y mirístico. Los insaturados tienen de 14 a 22 átomos, siendo el ácido oleico el monoinsaturado más abundante, seguido del palmitoleico. El ácido linoleico, linolénico y araquidónico son los principales ácidos grasos poliinsaturados (PUFA).

Hay numerosos estudios que recomiendan el aumento del consumo de los ω 3 y ω 9 para reducir el número de problemas cardiovasculares en personas de mediana edad (Mata, et al., 2002). También es conocido el papel beneficioso de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados en los procesos inflamatorios (Gil, 2002a), los efectos anticancerígenos de los ácidos grasos ω 3 y oleico (Muriana, F. 2002), así como el papel protector de los ácidos grasos poliinsaturados en enfermedades de la piel (Gil, A. 2002b).

La composición de ácidos grasos esenciales se puede manipular con la dieta del animal; para aumentar el contenido de PUFA ω 3 en la carne y grasa de cerdo, se añade al pienso aceites de pescado y semillas de lino, aunque disminuye la dureza y puede producir problemas en el aroma y una mayor susceptibilidad a la oxidación.

En la tabla I.2 se presenta la composición en ácidos grasos del componente graso de la carne. Se observa que la grasa de la carne de vacuno (aproximadamente 50 % de ácidos saturados), es más saturada que la de cerdo (más del 60% de ácidos grasos insaturados), por lo que la grasa de porcino es más enranciable y su punto de fusión es más bajo, destacando el alto valor del ácido linoleico (Primo, 1997).

En la tabla I.3. se presenta el grado de saturación de los ácidos grasos componentes de los lípidos del tejido muscular de diversas especies. Comparándola con otras especies, la carne de cerdo es menos insaturada que la carne de aves y más insaturada que la de vacuno u ovino (Ordóñez et al., 1998).

Tabla I.2. Ácidos grasos del componente graso de la carne. Valores medios aproximados (g/100g de grasa) (Primo, 1997).

| Ácido graso | Vacuno | Porcino |
|----------------------|--------|---------|
| Palmitico (C16:0) | 30 | 26 |
| Estearico (C18:0) | 20 | 12 |
| Palmitoleico (C16:1) | 2 | 3 |
| Oleico (C18:1) | 45 | 47 |
| Linoleico (C18:2) | 2 | 10 |
| Linolénico (C18:3) | 0,5 | 0,5 |

Tabla I.3. Grado de saturación de los ácidos grasos componentes de los lípidos del tejido muscular de diversas especies (Fennema et al., 1992).

| Especie | % Saturados | % Monoinsaturados | % Poliinsaturados |
|---------|-------------|-------------------|-------------------|
| Vacuno | 40-71 | 41-53 | 0-6 |
| Cerdo | 39-49 | 43-70 | 3-18 |
| Carnero | 46-64 | 36-47 | 3-5 |
| Aves | 28-33 | 39-51 | 14-23 |

I.1.2.3. Hidratos de carbono

Los tejidos animales contienen hidratos de carbono que se encuentran libres o formando compuestos más complejos. Se ha encontrado los monosacáridos glucosa, fructosa y ribosa. Entre los polisacáridos se encuentran los

mucopolisacáridos que forman parte de la sustancia de relleno de las proteínas del tejido conjuntivo y afectan a las propiedades físicas de la carne. Están compuestos por residuos alternos de un ácido urónico y una hexosamina. El polisacárido más abundante es el glucógeno, que se almacena en el músculo esquelético y en el hígado, como una sustancia de reserva energética; desempeña un papel fundamental en los cambios bioquímicos postmortem en la carne. La cantidad de ácido láctico formado durante el proceso de la glicólisis afecta fundamentalmente sobre las características de la carne.

I.1.2.4. Vitaminas y minerales en la carne

La carne es rica en vitaminas del grupo B y es pobre en vitaminas A y C. La carne de cerdo contiene diez veces más tiamina que la de vacuno. Se observa una mayor concentración de vitaminas en las vísceras, sobre todo en el hígado. (Primo,1997; Ordóñez et al., 1998).

La carne es una excelente fuente de zinc, hierro, cobre y aporta cantidades significativas de fósforo, potasio, magnesio y selenio. La proporción de cenizas es de 1-1.5 g por 100 g de carne fresca. Los iones calcio, magnesio, sodio y potasio intervienen directamente en el mecanismo de contracción-relajación muscular y el fósforo en diversos procesos fisiológicos (Ciclo de Krebs, ciclo de las pentosas-fosfato...).

I.1.3. CAMBIOS BIOQUÍMICOS EN EL MÚSCULO POSTMORTEM

Los cambios postmortem que suceden durante el tiempo que sigue al sacrificio del animal han intentado ser explicados por diferentes investigadores en los últimos años, y algunas recopilaciones han sido publicadas por autores como Ouali (1990), Koohmaraie (1994) o Ashie & Simpson (1997). Después del sacrificio se producen dos fenómenos en el músculo: la *rigidez cadavérica (rigor mortis)* y la *maduración*.

La carne del animal recién sacrificada es blanda y extensible y retiene agua, más tarde se vuelve rígida y dura, no se puede estirar y exuda agua; es el *rigor mortis*, que dura entre 10 y 30 horas. Luego se vuelve blanda, de nuevo extensible, y mejora su capacidad de retención de agua: es la maduración.

El músculo es un tejido muy especializado que convierte la energía química en energía mecánica, por lo que necesita un gran aporte de energía para el rápido funcionamiento del aparato contráctil, que deriva del ATP; para la actividad, el músculo tiene que recurrir a la oxidación de sustratos, como carbohidratos (glucógeno) o lípidos, para mantener un nivel adecuado de ATP. Muchas de las reacciones del metabolismo continúan después de la muerte del animal y tienen una elevada importancia en la calidad alimentaria del músculo (Fennema et al., 1992; Belitz et al., 1997).

Después de la muerte cesa la circulación sanguínea lo que provoca cambios importantes del tejido muscular. Los cambios principales son atribuibles a la falta de oxígeno (condiciones anaeróbicas) y a la acumulación de ciertos productos de desecho, especialmente lactato y H^+ . La célula post-mortem trata de mantener un alto nivel energético, pero al fallar el sistema circulatorio, el metabolismo oxidativo de los lípidos cesa y el ATP se agota gradualmente por la acción de las ATP-etas. Se genera temporalmente algo de ATP por conversión de creatín-fosfato en creatina y transferencia de su fosfato al ADP. La glicólisis anaerobia continúa generando algo de ATP y dando como producto final el lactato, que se acumula, hasta que la actividad glicolítica finaliza por descenso del pH (a valores de 5-5.5), debido a la hidrólisis de ATP; aunque este descenso también está correlacionado con la cantidad de lactato (Lawrie, 1997, Fennema et al., 1992; Belitz et al., 1997).

El descenso de pH es el factor que limita la glicólisis post-mortem que influye sobre la calidad de la carne. Así, cuando el pH es suficientemente bajo, alrededor de 5.1-5.5, ciertas enzimas críticas, como la fosfofructoquinasa, se inhiben y la glicólisis cesa. El pH finalmente alcanzado se denomina "pH final", valor que tiene una gran influencia en la calidad textural de la carne, la capacidad de retención de agua, la resistencia al desarrollo microbiano y el color. Si antes del sacrificio el

animal se ve sometido a estrés o a un ejercicio intenso, el contenido en glucógeno desciende y como consecuencia el pH final es elevado ya que no existe sustrato suficiente para que la glicólisis se prolongue.

Cuando el ATP se agota, se paralizan todas las reacciones biosintéticas y la célula pierde su integridad. Las moléculas de ATP y ADP actúan como plastificantes de la actina y miosina evitando la interacción de ambas, por lo que al agotarse durante el post-mortem, se unen formando el complejo actina-miosina y el músculo pasa a una situación conocida como “rigor mortis”. La rigidez se produce por acortamiento de las miofibrillas al formarse la unión actina-miosina en forma irreversible. La tendencia del músculo a contraerse post-mortem es debido a la pérdida de la capacidad para secuestrar calcio del retículo sarcoplásmico y las mitocondrias; estos orgánulos liberan Ca^{+2} debido al deterioro y al aumento de la permeabilidad de la membrana, y el aumento de su concentración en el sarcoplasma activa a las ATP-asas, aumenta la actividad de los sistemas glicolíticos y provoca un rápido descenso del pH.

La maduración de la carne o resolución del rigor mortis comprende los cambios posteriores al desarrollo de la rigidez cadavérica que determinan un relajamiento lento del músculo dando lugar a un ablandamiento de la carne después de 3-4 días de almacenamiento en refrigeración. Es un proceso muy complejo, según Ashie & Simpson (1997) los cambios degradativos postmortem que ocurren en el sarcoplasma, las miofibrillas y el tejido conjuntivo, se pueden atribuir principalmente a la actividad de proteasas endógenas (tabla I.4), y la proteólisis de algunas proteínas miofibrilares constituye uno de los procesos más importantes en el proceso de tenderización de la carne. Ello se debe en parte a proteasas específicas de la carne, que se activan con el calcio (calpaínas sarcoplásmicas) y, a pH 5, actúan sobre los discos Z que mantienen unidas las moléculas de actina-miosina. Además, parece haber una disociación parcial del complejo actina-miosina y una acción simultánea de las catepsinas (lisosomales), proteasas celulares que actúan sobre proteínas solubles e insolubles. (Fennema et al., 1992; Belitz et al., 1997).

Tabla I.4. Proteasas involucradas en la maduración de la carne (Varman et al., 1995).

| | | |
|-----------------------|---------------------|--|
| SARCOPLÁSMICAS | Calpaína I | Liberación de α -actina |
| | Calpaína II | Degradación de desmina, filamina, conectina y nebulina. Degradación de troponina y tropomiosina. Degradación de proteínas C y M. |
| | Catepsinas B | Degradación miosina, actina, troponina T. Degradación de colágeno. |
| LISOSOMALES | Catepsinas B | Degradación de miosina, actina, troponina T. Degradación de colágeno. |
| | Catepsinas L | Degradación de miosina, actina, troponina. Degradación de tropomiosina, α -actinina, titina. Degradación de colágeno. |
| | Catepsinas D | Degradación de miosina, actina, troponina. Degradación de tropomiosina, α -actinina, titina. Degradación de colágeno. |
| | Catepsinas H | No hay evidencias significativas de la forma de actuación. |

I.1.4. CAMBIOS ESTRUCTURALES EN EL MÚSCULO POSTMORTEM

La naturaleza estructural de las proteínas musculares, proporciona información sobre las propiedades físicas de la carne; la evidencia del efecto de las enzimas proteolíticas endógenas unido a los cambios en la pérdida de elasticidad y al incremento de la ternura fueron en un comienzo los objetivos principales de la caracterización microestructural (Aguilera, 1999). La Microscopía Electrónica de Barrido ha sido utilizada por numerosos investigadores en los últimos años para el estudio de la estructura de una gran variedad de alimentos, así como para el estudio de las modificaciones microestructurales que se producen durante los procesos industriales (Pascual-Albero et al., 1998; Pérez-Munuera et al. 1999a; Álvarez-Parrilla et al., 1997). En particular también se ha utilizado la Microscopía Electrónica para el estudio de las fibras musculares de distintas especies animales sometidas a diversas condiciones de almacenamiento postmortem, o a la exposición “in vitro” a diversas enzimas (Geissinger & Stanley, 1981; Voyle, 1981; Ouali, 1990; Silva et al. 1993). El seguimiento entre los 3-4 primeros días

postmortem por Microscopía Electrónica de Transmisión en músculo *semimembranosus* de bovino realizado por Taylor et al., (1995), muestra que el 65 % de la tenderización postmortem ocurre durante el tercer día de almacenamiento entre 2-4 °C; entre las miofibrillas se observan huecos o “gaps” que manifiestan la degradación de los constituyentes de los costámeros principalmente las proteínas vinculina, desmina y distrofina, la pérdida de la línea N₂, constituida por nebulina y titina, y una pequeña pérdida de la integridad de los discos Z.

Parece ser que la degradación entre los costámeros y las uniones intermiofibrilares se produce durante las primeras 24 horas postmortem en el músculo *longissimus dorsi* de ternera (Taylor et al., 1995) y se completa totalmente a las 72 horas postmortem. La eliminación de los discos Z y la degradación de las líneas M, parecen ser los principales cambios causados por las calpaínas I y II, que degradan particularmente la desmina en ensayos “in vitro” a partir sobre todo de las 72 horas postmortem. La estructura miofibrilar aparece más alterada en las fibras musculares tratadas con enzimas lisosomales, que parecen atacar principalmente la periferia de las bandas A y cerca de las líneas N₂. Algunos estudios han sugerido que los discos Z o su degradación, es el principal factor que contribuye a la tenderización postmortem; éstos se basan en experiencias que muestran que el sistema enzimático de calpaínas tiene un papel fundamental en la tenderización postmortem, y cuando se incuba con miofibrillas o trozos de músculo se observa la desestructuración de los discos Z. Pero está demostrado que entre el 65-80 % de toda la tenderización postmortem ocurre durante los 3-4 días postmortem, y no existe degradación de los discos Z durante este periodo. Taylor et al., (1995) muestran que durante los 3-4 primeros días postmortem a 4 °C, se degradan los costámeros principalmente las proteínas vinculina, desmina y γ -actina. También se degrada la estructura filamentosa que une las miofibrillas lateralmente a nivel de los discos Z, las líneas N₂ (área con filamentos de titina y nebulina que constituyen una red citoesquelética que enlaza los filamentos gruesos y delgados a los discos Z), dando como resultado huecos o “gaps” entre miofibrillas en el músculo postmortem.

I.2. LA CARNE DE CERDO

I.2.1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Desde la antigüedad el cerdo ha sido un animal destacado en muchas y diferentes culturas. Para algunas fue considerado un animal totémico, una especie sagrada, que no podía ser tocada, sacrificada ni comida, frente a otras que considerándolo también un animal sagrado, sí permitían su consumo en determinados momentos, como los egipcios en días de plenilunio o también los sirios. Para los celtas era un elemento básico de su dieta, los griegos veneraban a una Diosa Cerda y atribuían facultades mágicas al cerdo, en el imperio romano los derivados de la carne de cerdo llegaron a adquirir tal importancia que su consumo era signo de realeza. Tan importante era el papel del cerdo en la vida cotidiana de ciertos pueblos europeos que el ritual de su cebado y sacrificio irrumpió en las más brillantes y representativas manifestaciones del arte religioso cristiano, fundamentalmente el estilo románico. En España su consumo se vio impulsado en los siglos XV, XVI, XVII y XVIII por la limpieza de sangre del país, tras la expulsión de árabes y moriscos, ya que una de las cosas que diferenciaba a los auténticos cristianos de los falsos conversos era el hecho de consumir cerdo. Precisamente esto hizo que durante un periodo de tiempo, la ingestión de carne de cerdo en España fuera asociada a la nobleza e hidalguía (Capel, 1992).

Desde su domesticación, el cerdo se convirtió en la base de la alimentación por los productos derivados que se obtienen y la matanza en una celebración ritual que se sigue manteniendo hoy en día como una costumbre viva. El sacrificio abastecía de carne durante todo el año y los procesos de salazón y curado se utilizaban para proteger el buen estado de la carne, pudiendo dosificar el consumo en función de las exigencias de cada momento. De esta necesidad deriva la técnica moderna de producción de jamones y embutidos para conservar los productos cárnicos perecederos después del sacrificio.

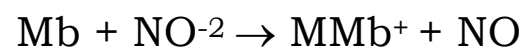
I.2.2. LOS PRODUCTOS CÁRNICOS

I.2.2.1. Productos cárnicos curados

Además de la carne fresca, las industrias cárnicas obtienen una gran variedad de productos (embutidos, pastas, jamones, etc.) que constituyen un potencial económico muy importante. Productos derivados de mezclas gelificadas cocidas (salchichas, mortadelas, pastas, etc.), embutidos fermentados (salchichón, chorizo, etc.) y piezas curadas (jamón serrano, etc.) son los productos característicos del procesado del curado.

El curado consiste en la adición a la carne de cloruro sódico, nitritos y nitratos, polifosfatos, ácido ascórbico, proteínas lácteas y especias muy diversas. Entre los objetivos perseguidos al añadir sal durante el procesado de la carne y de los productos cárnicos está el incremento del poder de retención de agua, al elevar la fuerza iónica del medio, y el aumento de la solubilidad de las proteínas musculares, favoreciendo así la manifestación de sus propiedades tecnológicas (poder emulsionante, ligante, etc.) (Sayas-Barbera, 1997). La sal común es el aditivo principal que aumenta la presión osmótica e inhibe el desarrollo de microorganismos. La sal arrastra, inicialmente, agua y proteínas solubles hacia el exterior de la carne. Más tarde la sal difunde hacia el interior, en un proceso de uniformización de la concentración, simultáneamente se produce desplazamiento hacia el interior de otros compuestos como las proteínas y la carne se hincha. El complejo sal-proteína que se forma fija agua; así la capacidad de fijación de agua de las proteínas generalmente aumenta durante el curado. La carne final contiene más cenizas debido a las sales absorbidas. El papel de los polifosfatos es el de disociar el complejo actina-miosina, aumentar el pH, mejorar la capacidad de retención de agua y disminuir la pérdida de ésta por cocción.

En la tecnología cárnica juega un papel muy importante la modificación y estabilización del color por adición de nitrato o nitrito (curado). El nitrito (NO^{-2}) oxida en primer lugar la mioglobina (Mb) a metamioglobina (MMb^+):



El óxido nítrico (NO) resultante forma con la mioglobina y la metamioglobina complejos extremadamente estables (MbNO y MMb^+NO) de color rojo brillante intenso de curado. La presencia de reductores (ascorbato, tiol, NADH) aceleran el curado mediante la reducción de MMb^+ a Mb. El color de la carne curada es termoestable. Por el contrario, el calentamiento de la carne sin curar conduce a la transformación del color rojo en pardo (Belitz et al., 1997).

Los nitritos ejercen una función antibacteriana importante sobre el *Clostridium botulinum*.

Con las sales de curado, el cambio de color y la pérdida de agua van acompañados de otras modificaciones físicas, químicas y bioquímicas que se comentan con más detalle para el jamón curado en los próximos epígrafes.

1.2.2.2. El jamón curado

El arte de salar y curar jamones es una herencia gastronómica que ha sobrevivido y se ha perfeccionado a través de los siglos. Cuando hablamos de Jamón Serrano, no nos referimos a la denominación tradicional de jamón curado de cerdos criados en zonas serranas, sino específicamente a una categoría especial de jamón: el que proviene del cerdo blanco. El cerdo blanco es el resultado de cruces de razas *Landrace*, *Duroc-Jersey*, *Large White*, *Blanco Belga*, etc.

Estos cerdos blancos son alimentados en establos, con piensos naturales a base de cereales. La cría se controla hasta el momento del sacrificio del animal, a la edad de 5-6 meses, con un peso de 95 Kg aproximadamente. La calidad del Jamón

Serrano está determinada por tres factores: castración de los cerdos, peso de la pieza y contenido total de grasa. El proceso industrial de elaboración del Jamón Serrano es la actualización de los métodos tradicionales que han hecho de él un producto único y reconocido en el mundo; consiste en la transformación del pernil (extremidad posterior del cerdo) en jamón y de la extremidad anterior en paleta.

Se conoce como “pernil” la pata sin curar del cerdo o jamón fresco y como “jamón” la extremidad posterior curada. Se elabora respetando cuidadosamente la Legislación Sanitaria sobre la materia, sin colorantes ni aditivos.

El Jamón Serrano tiene un sabor y unas características organolépticas que hacen de él un producto de la más alta calidad gastronómica, garantizada por una elaboración tradicional y una correcta selección de la materia prima.

Desde el punto de vista nutricional, el proceso proteolítico y lipolítico que se produce en la pieza, genera transformaciones durante el proceso de elaboración que hacen del jamón un producto ligero y saludable como consecuencia de una elaboración sencilla. La carne de cerdo no sufre grandes manipulaciones y las sales curantes utilizadas durante la fase de salado, tienen como objetivo evitar alteraciones microbiológicas en el jamón. No necesita colorantes, es muy digestivo y orgánicamente sano, debido a su alto contenido en ácidos grasos insaturados y su efecto anticolesterol.

Las condiciones esenciales para que la elaboración de un jamón curado se realice adecuadamente son las siguientes (Bello, 1985):

- a) Adecuado tratamiento tecnológico y correcta manipulación de la materia prima
- b) Selección de la materia prima
- c) Empleo de carnes correctamente acidificadas

Los principios básicos para la fabricación de todo jamón curado se resumen en dos:

- **Estabilización del producto**, para que pueda conservarse a temperatura ambiente sin riesgo para la salud del consumidor, ni de posibles alteraciones. Esta estabilidad se asegura con la aplicación de frío en las primeras etapas y por la disminución de la actividad de agua, que se consigue por la acción conjunta de las sales de curado en la etapa de salado y la posterior desecación (Nieto, 1988; Sayas & Pérez, 1989; Astiasaran *et al.*, 1991; Palmia & Bolla, 1991; Flores *et al.*, 1994).
- **Desarrollo de propiedades sensoriales características**, consecuencia de un correcto proceso de maduración-desecación, en el que los procesos enzimáticos, lipolíticos y proteolíticos, liberan productos de bajo peso molecular como aminoácidos, di y tripéptidos, ácidos grasos libres y compuestos carbonílicos, que dan al producto el aroma y sabor característicos (Nieto, 1988; Astiasaran *et al.*, 1991; Flores *et al.*, 1997; Navarro *et al.*, 1997; Toldrá *et al.*, 1997 y 1998a).

I.2.2.3. Efecto de las sales de curado en el jamón

Existen diferencias significativas entre los distintos tipos de jamón curado europeos estudiados por Lozano *et al.*, (1998), debido a las diferentes condiciones de la etapa de salado, y a los distintos contenidos en grasa inter e intramuscular, la cual dificultaría los procesos de difusión del NaCl (Antequera, 1990).

El principal obstáculo para la estabilidad microbiológica del jamón curado es el pH, la temperatura y la actividad de agua (a_w) (Leistner, 1985). Una disminución en la a_w es el principal responsable de la conservación del producto cárnico curado, y ésta se alcanza por la penetración de sal y la expulsión de agua de la carne.

La humedad disminuye en el proceso de penetración de sal debido principalmente al efecto osmótico producido por la misma, que cubre la superficie del jamón. Posteriormente ésta disminuye a lo largo del proceso del curado (Arnau et al., 1995).

El jamón curado es un producto no-homogéneo que sufre un proceso de salado y deshidratación, influido por la dinámica de migración del agua, NaCl, nitratos y nitritos (Arnau et al., 1995). La penetración de la sal se produce por difusión a través de la piel y la grasa, los cuales absorben sales durante el periodo de salado, y posteriormente difunde hacia los distintos músculos de la pieza. Ello puede explicar el incremento de la concentración de sal en materia seca del pernil curado a lo largo del periodo de elaboración del jamón curado.

León-Crespo et al., (1991) estudian la concentración salina en profundidad del jamón, con el fin de encontrar ecuaciones matemáticas por ajuste y así señalar los periodos críticos en el procesado del jamón curado que no superan una concentración adecuada de sal para evitar los daños producidos por bacterias del género *Clostridium*, para una determinada actividad del agua ($a_w < 0.97$); llegan a la conclusión de que existe una compleja distribución de sal en el interior de los músculos, y la concentración de la misma se equilibra hacia el final del proceso.

Las zonas externas muestran mayores concentraciones de sal en el principio del proceso, pero esta tendencia se invierte durante la maduración, debido a la penetración desde las zonas externas más secas a las internas más húmedas. El contenido total en NaCl en la carne magra de los jamones aumenta después del salado y permanece constante después de las fases restantes.

La concentración de cloruro sódico, en el músculo *semimembranosus* disminuye durante la maduración debido a la migración de sal hacia los músculos más húmedos y así, el incremento en la concentración de sal en los músculos *biceps femoris*, *semitendinosus*, *vastus lateralis* y *gastrocnemius* sería mayor debido a la mayor humedad que presentan, la cual facilitaría la disolución de NaCl (Arnau et al., 1995). La posición de los músculos se describe en la figura I.2.

Según los mismos autores el pequeño músculo *gracilis*, situado en la parte externa más cercana a la superficie de salado, presenta la mayor concentración de sal, durante el inicio del salado y la más baja durante el final del proceso.

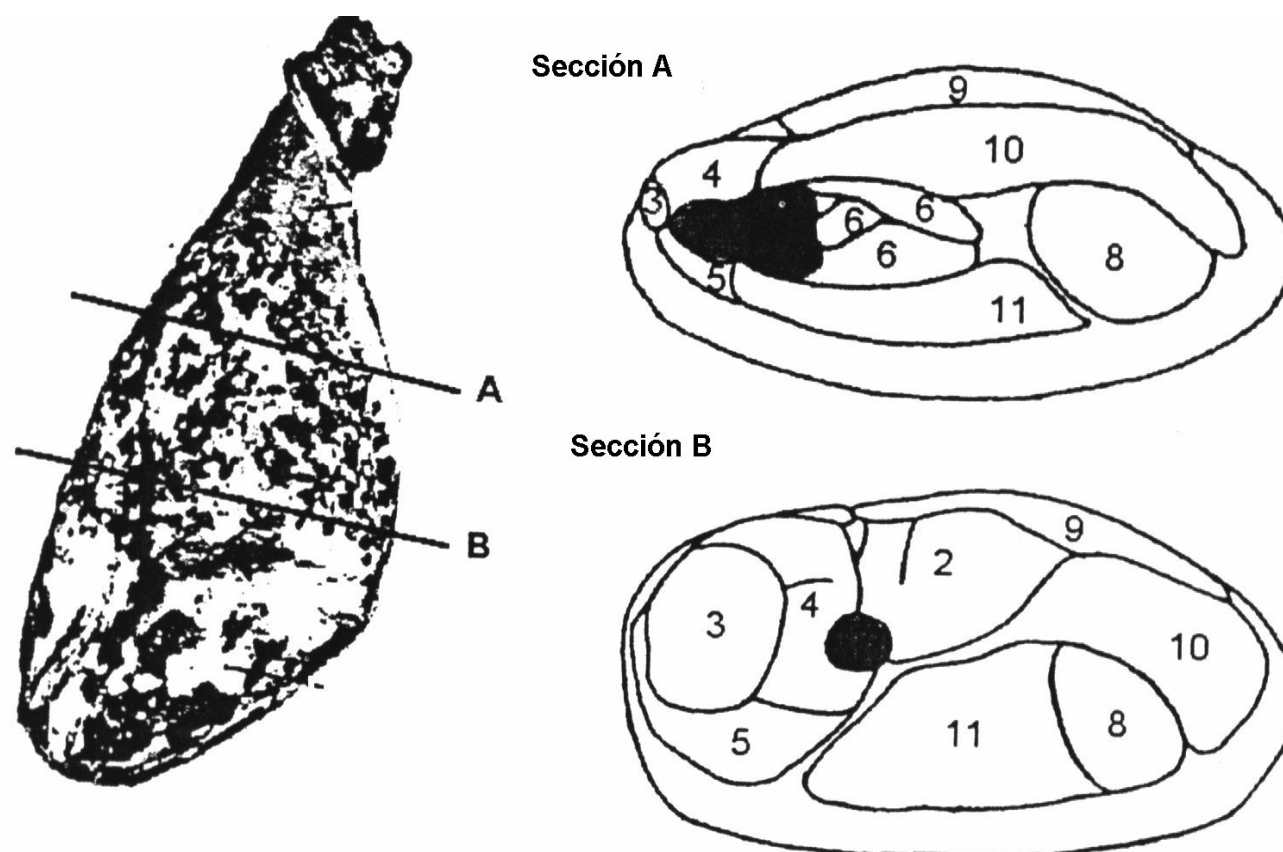


Figura I.2. Localización de los músculos en el jamón curado, en dos secciones distintas. 2: *adductor*; 3: *rectus femoris*; 4: *vastus medialis* y *vastus intermedius*; 5: *vastus lateralis*; 6: *gastrocnemius*; 8: *semitendinosus*; 9: *gracilis*; 10: *semimembranosus*; 11: *biceps femoris*. (Arnau et al., 1995)

Con ello se deduce que la concentración de sales en los jamones varía a lo largo del proceso, debido a la penetración de la sal desde las capas secas externas, hacia las zonas más húmedas. Sin embargo, publicaciones como la de Flores et al., (1985) no encuentra cambios en la concentración de NaCl, después del segundo mes del proceso, aunque utiliza otros métodos de muestreo.

Respecto a la distribución de las sales, Monin et al., (1997) en su estudio sobre los cambios químicos y estructurales en el jamón curado citan la disminución de humedad en todos los músculos a lo largo de las etapas de elaboración, siendo más rápida en el *semimembranosus* y el *rectus femoris* no cubiertos con piel y grasa subcutánea. También estudian la variación en la concentración de sal en el

proceso, y observa que el contenido en sal aumenta rápidamente en *semimembranosus* y *rectus femoris* que están en contacto más directo con la sal durante el salado. En todos los músculos, excepto en *semimembranosus*, la concentración de sal en materia húmeda aumenta continuamente hasta el final del proceso; en las últimas etapas el incremento es debido, principalmente, a la deshidratación. Todo ello se observa al comparar los datos expresados tanto en materia seca como en húmeda, tal como se muestra en la Tabla I.5.

En las últimas etapas del proceso la distribución de la sal en el jamón depende principalmente de la distribución de agua, y tiende a igualarse en los músculos más significativos. De este modo, durante el procesado, la sal inicialmente tiende a distribuirse uniformemente. A conclusiones similares llegaron Arnau et al., (1995) y León-Crespo et al., (1991). Por lo tanto, los gradientes de sal dentro del jamón están directamente determinados por gradientes de agua.

Tabla I.5. Contenido de NaCl, expresado en % de materia húmeda y en % de materia seca, en cuatro músculos en el proceso de elaboración del jamón curado (Monin et al., 1997).

| Músculo | | | | |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Tiempo (días) | BF | RF | SM | ST |
| NaCl (% masa húmeda) | | | | |
| 0 | 0,11 | 0,12 | 0,12 | 0,13 |
| 78 | 3,65 | 7,18 | 5,55 | 4,37 |
| 251 | 7,72 | 8,79 | 6,65 | 7,59 |
| NaCl (% masa seca) | | | | |
| 0 | 0,44 | 0,53 | 0,48 | 0,52 |
| 78 | 12,5 | 21,1 | 16,2 | 13,5 |
| 251 | 20,1 | 19,9 | 13,1 | 17,9 |
| BF: <i>biceps femoris</i> ; RF: <i>rectus femoris</i> ; SM: <i>semimembranosus</i> ; ST: <i>semitendinosus</i> | | | | |

Algunos autores (Arnau et al., 1995) intentan explicar la inversión de la concentración de NaCl por la tendencia natural del ratio NaCl/humedad a equilibrarse entre las diferentes zonas del jamón, sin embargo la distancia entre diferentes zonas, la presencia de grasa, huesos y barreras de tejido conjuntivo pueden reducir este ratio.

Es significativa la absorción del NaCl por los huesos internos (fémur, tibia y fibula) durante la maduración del proceso de elaboración del jamón, para comprender que en algunos músculos no se encuentran diferencias significativas en cuanto a la disminución de sal y que la mayor parte de la sal absorbida por los músculos después del periodo del secado puede proceder de las zonas no musculares.

Froystein (1989), estudia por tomografía de rayos X la distribución de sales en el jamón curado. En los tomogramas (áreas con diferentes densidades de rayos X) se aprecia la distribución de sales a lo largo del proceso, observándose las concentraciones de sal en los músculos en gráficas coloreadas. Las sales recorren los músculos, desde los que inicialmente están en contacto con la sal (*Semimembranosus*), hasta el último (*biceps femoris*). La capa de grasa subcutánea significa una barrera para la absorción de sal, disminuyendo la penetración cuando aumenta el grosor de la capa adiposa.

Sayas-Barbera (1997) distinguen tres periodos en el estudio de penetración de la sal:

- Salado, en el cual, la sal difunde a través de los músculos, y se encuentran las más elevadas concentraciones en los músculos más externos.
- Post-salado, la sal difunde al interior de los músculos por gradiente de presión osmótica; sólo la sal absorbida durante el periodo anterior se difunde hacia los músculos más profundos. Aquí la temperatura es un factor muy importante para la conservación del jamón, ya que, los parámetros fisico-químicos (a_w , Cl-,

NO²-), todavía no alcanzan un valor suficiente para evitar el deterioro microbiológico (Sayas-Barbera & Pérez-Álvarez 1989).

- Secado-Maduración, es la etapa de mayor duración. La distribución de la sal es homogénea. La actividad lipolítica y proteolítica genera las características sensoriales del jamón curado.

La penetración de la sal en las carnes con pH alto es difícil debido a que las fibras están hinchadas. Si se utiliza carne de cerdo con músculo pálido, blando y exudativo (carnes PSE), en el que se alcanza rápidamente un pH bajo post-mortem, la capacidad de retención de agua del producto curado puede ser baja. Aunque la sal penetra más fácilmente, esta ventaja es superada por el inconveniente de la gran cantidad de proteína desnaturalizada que tiene una escasa capacidad de retención de agua. La congelación de la carne antes del curado también aumenta la velocidad de penetración de la sal, porque la congelación rompe parcialmente la estructura de la carne (Fennema, 1992).

El contenido en sal también influye en las concentraciones de la fracción de nitrógeno no proteico (NPN). Durante la maduración del jamón curado, ibérico y otros (Parma, Serrano, French y Country-Style), se produce una proteólisis que aumenta la concentración de NPN. Debido a la proteólisis las proteínas sufren una serie de transformaciones que conducen a la formación de péptidos y aminoácidos libres, los cuales contribuyen al desarrollo de las características sensoriales del jamón curado, ya que los compuestos formados tienen características sápidas propias, y participan en la formación de compuestos aromáticos (Ventanas et al., 1992). Durante la maduración aumenta el nitrógeno no proteico y el nitrógeno amino, como consecuencia de la intensa actividad proteolítica sobre la fracción soluble, constituida esencialmente por proteínas sarcoplasmáticas, y son estos compuestos responsables de las características sensoriales típicas del jamón curado (Flores et al., 1984).

Los cambios químicos y bioquímicos en el jamón curado durante las sucesivas etapas del proceso de elaboración han sido ampliamente estudiados (Antequera, 1992; Córdoba et al., 1994; García et al., 1991; Toldrá et al., 1991 y 1998a).

Los nitratos se difunden rápidamente a través de todos los músculos, se encuentran concentraciones elevadas de 200 ppm. Esta rápida difusión puede ser facilitada por la leve interacción entre nitratos y proteínas (Fox, 1980). El *Gracilis* presenta el valor más elevado de la concentración de nitratos, que disminuye rápidamente durante el proceso restante, por migración del NO_3^- en el jamón y su transformación a nitrito, causado por la actividad nitrito reductasa de los *Micrococcaceae*, que aumenta en esta fase de 10^5 a 10^7 c.f.u./g (Hugas et al., 1987; Carrascosa et al., 1988; Silla et al., 1989).

Según Arnau et al., (1995), también existe una tendencia al equilibrio del ratio nitratos/humedad en las diferentes zonas del jamón. Los valores estimados de NO_3^- en tejidos magros disminuyen rápidamente durante el resto de periodos y más lentamente durante la maduración. Los nitritos aumentan durante el periodo de postsalado, especialmente en zonas externas, pero prácticamente desaparecen al final del periodo de maduración. Todo ello concuerda con los resultados de Huerta (1986) que estudia la evolución del nitrato y nitrito en el proceso de fabricación del jamón curado.

Con respecto a la microestructura, las sales de curado producen cierta solubilización de las proteínas miofibrilares, generando, como consecuencia, una dispersión de los miofilamentos. Los iones Cl^- unen los filamentos e incrementan las fuerzas repulsivas electrostáticas entre ellos; esta unión crea el hinchamiento de los sarcómeros. A elevadas concentraciones de iones Cl^- , las uniones transversales entre filamentos gruesos y delgados pueden llegar a romperse por fuerzas electrostáticas repulsivas, y produce una dispersión de estas uniones transversales y una despolarización de los filamentos (Sayas-Barbera et al., 1990).

I.2.2.4. Papel de las enzimas en los procesos de curado

Las enzimas juegan un papel importante en los procesos de curado de productos cárnicos como el jamón, desde el punto de vista de los cambios bioquímicos que se producen, especialmente la proteólisis que tiene lugar durante el proceso (Bellati et al., 1983; Flores et al., 1984; Gil et al., 1991).

El progreso de proteólisis durante la elaboración de jamones curados puede depender del proceso específico de fabricación, pero generalmente, sigue un esquema similar: (1) se produce una proteólisis de proteínas miofibrilares dando lugar a la formación de polipéptidos de tamaño intermedio, (2) consecuentemente, se degradan a pequeños péptidos por la acción de peptidasas y (3) se generan finalmente péptidos muy pequeños y aminoácidos libres como resultado de la acción de di- y tri- peptidilpeptidasas y aminopeptidasas.

El término de catepsinas generalmente designa peptidasas localizadas en los lisosomas y que muestran actividad a pH ácido. Éste es de hecho un complejo grupo de enzimas, que incluyen tanto exo- como endo-peptidasas pertenecientes a distintas familias de peptidasas, como son las cisteín peptidasas (catepsinas B, H, L, X,...), aspártico peptidasas (catepsinas D y E) y serín peptidasas (catepsina G) (Sentandreu et al., 2002).

Las catepsinas B y L son proteinasas lisosomales en el músculo ante-mortem pero son liberadas al citosol una vez producida la muerte celular. Permanecen activas durante todo el proceso. La catepsina B tiene un pH óptimo de actuación que varía entre 3.5 y 6 (Asghar & Batí, 1987), dependiendo de la naturaleza del sustrato, pero su velocidad máxima (V_{max}) es a pH 6. La enzima es inestable por encima de pH 7. También se ha observado que la enzima se estabiliza al aumentar la presión (Kurth, 1986). Es una de las pocas proteasas capaces de degradar el colágeno. La catepsina L parece estar presente en todos los tejidos. Presenta un peso molecular de 24 kDa. Su pH óptimo varía desde 4.1 frente a miosina, hasta 7 frente al complejo troponina-tropomiosina. Es estable entre pH 4.5-6.5 (Okitani et

al., 1980) y altamente inestable a pH neutro (Dufour et al., 1987). A pH 3.5 es capaz de degradar colágeno diez veces más rápidamente que la catepsina B.

La catepsina D es una proteinasa aspártica que se ha demostrado juega un papel importante en los cambios de textura en carnes (Goll et al., 1982, 1983 y 1991; Etherington, 1984; Zeece & Katoh, 1989).

Los análisis *in vitro* muestran la facilidad de estas enzimas para degradar diferentes proteínas miofibrilares como son las cadenas pesadas de la miosina, la titina, las proteínas M y C, la actina, la tropomiosina, y troponinas I y T sobre todo en el caso de la catepsina L y la catepsina D. La catepsina B es especialmente activa frente a la miosina (Schwartz & Bird, 1997) y a la actina (Hirao et al., 1984).

Como muchas otras peptidasas, las catepsinas son sintetizadas como proenzimas que más tarde son transformadas en las enzimas activas por eliminación del péptido N-terminal. Este proceso puede ser llevado a cabo por autólisis o por acción de otras peptidasas (Turk et al., 2000).

Las catepsinas activas representan un potencial hidrolítico elevado ya que su concentración en las células puede ser mayor de 1mM (Lloyd & Mason, 1996). Su actividad es controlada por diferentes factores, como son el pH, el potencial redox, el alcance de la activación del precursor o proenzima y los inhibidores endógenos específicos. Los inhibidores endógenos parecen jugar mayor papel en la regulación de las enzimas implicadas en la tenderización postmortem (Ouali, 1999; Shackelford et al., 1991).

A veces, un exceso de proteólisis puede resultar en defectos de textura. Por ejemplo, una elevada actividad residual de la catepsina B se ha relacionado con una alta degradación de proteínas y un excesivo ablandamiento; por ello, la calidad textural de los productos finales puede ser mejorada con un control de la actividad de catepsina B en perniles.

Durante el proceso de curado las enzimas musculares pierden actividad solo muy lentamente, ya que la presencia de las sales de curado en los tejidos debe estabilizar la actividad de las cistein proteinasas frente a las desnaturalización. El incremento en la fracción de nitrógeno no proteico y más específicamente de aminoácidos libres podría ser debido a la acción continua de las proteinasas y peptidasas musculares en las proteínas del músculo durante el curado de jamones (Toldrá & Etherington, 1988).

El papel de las exopeptidasas en la degradación de proteínas y péptidos no ha sido muy estudiado en carne, aunque estas enzimas están relacionadas el las últimas etapas de la degradación proteolítica.

Las aminopeptidasas son metaloproteínas con una estructura compleja y con una gran variabilidad de pesos moleculares. La aminopeptidasa B (RAP), así como las leucil (LAP), alanil (AAP), y piroglutamil (PGAP) aminopeptidasas se localizan en el citosol del músculo esquelético de porcino. El nombre de estas enzimas hace referencia al aminoácido N-terminal específico sobre el cual actúan. Todas ellas son activas a pH neutro, excepto la leucil aminopeptidasa que es activa a pH básico. La alanil aminopeptidasa es la más importante de todas y su actividad supone hasta el 86 % del total de actividad aminopeptidasa en el citosol del músculo esquelético. La aminopeptidasa B tiene una marcada preferencia por aminoácidos N-terminal básicos, como arginina y lisina. Leucil y piroglutamil aminopeptidasas están presentes en el músculo esquelético porcino a bajos niveles y tienen especificidad por aminoácidos N-terminal como la leucina o metionina en el caso de la LAP y como el aminoácido piroglutámico en el caso de la PGAP, la cual tiene un papel limitado en el jamón. Las aminopeptidasas LAP y dipeptidil peptidasa III han mostrado una buena estabilidad durante el proceso de curado de jamón con actividades residuales hasta casi el final del proceso (Toldrá & Flores, 1998a).

I.3. EL JAMÓN CURADO DENOMINACIÓN DE ORIGEN TERUEL

I.3.1. LA DENOMINACIÓN DE ORIGEN TERUEL

I.3.1.1. Historia

La Denominación de Origen de Jamón de Teruel se aprobó en Octubre de 1984 por la Consejería de Agricultura del Gobierno de Aragón y posteriormente se ratificó por el Ministerio de Agricultura, en 1985. Después de aceptar el reglamento empezó a funcionar, y fué la primera que se creó en España para respaldar, controlar y garantizar la producción de jamones. Esta actitud pionera se debe a la gran tradición que existe en la provincia de consumir productos derivados del cerdo y concretamente de la elaboración de jamón serrano. El actual reglamento de la Denominación de Origen Jamón de Teruel fue aprobado por la Orden de 29 de Julio de 1993 del Departamento de Agricultura, Ganadería y Montes del Gobierno de Aragón, ratificada a su vez por una Orden del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación con fecha de 3 de noviembre de 1993. La reforma del reglamento original fue necesaria para adaptarla a la normativa de la Comunidad Europea sobre protección de las indicaciones geográficas y las denominaciones de origen de productos agrícolas y alimenticios.

Los sectores implicados en esta actividad productiva, ganaderos, secaderos y la administración pública propulsaron el nacimiento de la denominación de origen “Jamón de Teruel”. Los objetivos perseguidos eran contribuir al desarrollo de la provincia y concretamente del sector porcino, lograr que los cerdos para la denominación fueran criados en Teruel, explotar las ventajas climáticas para el curado, aprovechar los conocimientos para desarrollar una industria próspera y aplicarlos para la elaboración a gran escala, sin perder la tradición artesana conjugada con los métodos modernos de control y elaboración.

Con el distintivo de Teruel se garantiza el origen del jamón, su alta calidad y se refleja la voluntad de mejorar la comercialización para introducir el producto y distribuirlo por toda España, especialmente en Levante, Aragón y Cataluña.

I.3.1.1.a. El nombre “Jamón de Teruel”

El Reglamento de la Denominación de Origen define el uso adecuado del nombre “Jamón de Teruel”. Este calificativo sólo puede utilizarse para jamones producidos bajo la denominación, que cumplan, por tanto, los controles de producción y normas de calidad. El nombre de la Denominación de Origen debe emplearse en su integridad, con las tres palabras que lo componen, en el mismo orden y con idénticos caracteres. Queda prohibida la utilización en otros jamones de marcas, términos, expresiones y signos que por su similitud fonética o gráfica con los protegidos pueda inducir a confusión, aún en el caso que vayan precedidos por las designaciones “tipo Teruel”, “gusto”, “estilo”, “elaboración en madurado o curado en”, “con industrias en”, o análogos (BOE, 1993).

I.3.1.1.b. Reconocimiento de la Unión Europea

Al aprobarse su reglamento, la Denominación de Origen Jamón de Teruel se incluyó entre los alimentos protegidos por la Unión Europea (UE) por estar elaborado en unas zonas geográficas concretas y bajo unas condiciones estrictas de calidad. La Comisión Europea, órgano ejecutivo de la UE, aprobó en marzo de 1997 una lista de 318 productos de especial calidad, entre los que figura el Jamón de Teruel junto con otros 36 productos españoles. Esta decisión supone que la protección que comporta la Denominación de Origen en el ámbito estatal queda ampliada al resto de Europa.

El reconocimiento de la Comisión, ratificado por el Consejo de Ministros de Agricultura de la UE, es un paso fundamental para asegurar que el Jamón de Teruel que se distribuya como tal en el mercado europeo sea exclusivamente el producido al amparo de la Denominación de Origen. El acuerdo adoptado por la UE servirá para mejorar aún más las perspectivas futuras de la Denominación de origen Jamón de Teruel, que pasan, en primer lugar, por incrementar la producción de jamones protegidos, aumentar las ventas en los mercados donde ya se ha introducido y procurar la apertura de otros nuevos (BOE, 1993).

I.3.1.2. El consejo Regulador

I.3.1.2.a. Características generales

El Consejo Regulador de la Denominación de Origen Jamón de Teruel está integrado en el Departamento de Agricultura, Ganadería y Montes del Gobierno aragonés. La misión principal es aplicar el Reglamento de la Denominación y velar por su cumplimiento. Está autorizado para vigilar el movimiento de cerdos, perniles y jamones no protegidos que transitan, se elaboran y comercializan dentro de la zona de producción, con el objetivo de impedir el fraude y el uso indebido del nombre Jamón de Teruel. De la inspección y del control se encargan los veedores, que garantizan todos los procesos de elaboración del jamón protegido.

El Reglamento de la Denominación de Origen establece que el ámbito de la competencia del Consejo Regulador está constituido por las respectivas zonas de producción, en toda la provincia de Teruel y en las de elaboración, en los municipios situados a más de 800 metros de altitud. Tiene competencia sobre aquellos productos protegidos por la Denominación, en cualquiera de sus fases de elaboración, circulación y comercialización. Es competente en el control del cumplimiento de los derechos y obligaciones que fija el Reglamento para las personas inscritas en los diferentes Registros que lleva el Consejo Regulador, granjas de producción de lechones, cebo de cerdos, mataderos, secaderos y envasadoras del Jamón de Teruel (BOE, 1993).

I.3.1.2.b. Funcionamiento

El presidente del Consejo Regulador administra los fondos y es responsable del cumplimiento de las disposiciones legales o reglamentarias que afectan a la Denominación de Origen. Los acuerdos del Consejo se adoptan por mayoría en las juntas, cada tres meses, a las que deben asistir como mínimo la mitad de los miembros.

Los veedores del Consejo son los que realizan las inspecciones en granjas, mataderos y salas de despiece, instalaciones de curación y maduración, cerdos, perniles y jamones, ubicados en las zonas de producción de la Denominación de Origen. Los veedores marcan los cerdos y los jamones ya elaborados, comprobando el cumplimiento del Reglamento en la fase de crianza, secado y maduración.

I.3.2. CONDICIONES DE PRODUCCIÓN DE JAMÓN “D.O. TERUEL”

I.3.2.1. La provincia de Teruel

La provincia de Teruel es la más meridional de la Comunidad Autónoma de Aragón y limita con Zaragoza, Guadalajara, Cuenca, Valencia, Castellón y Tarragona. Se encuentra en plena Cordillera Ibérica, cadena montañosa que la atraviesa desde el noroeste al sureste. Su superficie total es de 14.785 Km², y con algo más de 140.000 habitantes es una de las zonas de España con menor densidad de población, cifrada en torno a los 10 hab/Km². Las migraciones y el envejecimiento de la población condicionan la actividad económica.

El clima de Teruel, frío y seco, está vinculado con las características orográficas de la provincia; su situación en plena cordillera Ibérica hace que aproximadamente el 62% de su territorio esté por encima de los mil metros de altitud, llegando en algunas zonas a los 2.000 metros. El viento dominante es de componente Noroeste y por lo tanto fresco, el cierzo, que hace que represente un clima perfecto para el proceso de secado, curación y maduración del jamón. El clima de Teruel tiene un matiz continental, ya que existen grandes diferencias según las cotas de altitud. Las serranías, que son las áreas más elevadas, registran temperaturas medias anuales de entre 8 y 12° C, con nevadas invernales y largos periodos de heladas que en ocasiones se extienden entre octubre y mayo.

El desarrollo de la industria agroalimentaria se considera uno de los factores principales del futuro de Teruel. El sector porcino crece en importancia y se convierte en un recurso económico, por ser un producto de consumo tradicional en la provincia. Actualmente sólo un 30% de las canales producidas en Teruel se transforman en la provincia, aunque la mayoría corresponde a jamón curado por reunir la provincia las condiciones climatológicas naturales adecuadas. De los dos millones de jamones secados en la provincia el año pasado, menos del 4% están bajo la Denominación de Origen Teruel, producción que se quiere aumentar garantizando la excelente calidad de los perniles (Consejo Regulador de la D.O. “Jamón de Teruel”, 2001).

I.3.2.2. El proceso de elaboración

La zona de producción queda restringida al área geográfica de la provincia de Teruel. El jamón seleccionado para la obtención de la Denominación de Origen es un cerdo blanco que proviene exclusivamente de animales que descienden por línea paterna de animales de raza *Landrace* (tipo estándar) o *Duroc* y de línea madre de la raza *Landrace* (tipo estándar), *Large White* o cruce de ambas.

La selección de las razas se realiza en centros especializados ubicados en la propia comarca de producción, en los que se selecciona con rigor clínico los animales de reproducción que garantizarán la máxima uniformidad.

Los cerdos destinados a proveer los perniles para la elaboración de jamones con Denominación de Origen viven, desde que el lechón nace, bajo un detallado programa de cuidados y alimentación, supervisado por el Consejo Regulador, hasta alcanzar los 8 meses de vida y alcanzar un peso entre 115 y 130 kg. El cerdo en los 15 días anteriores al sacrificio no puede recibir ningún tratamiento ni ingerir fármacos y en los 40 días anteriores sólo se podrán suministrar aquellos que permita el Consejo Regulador (BOE, 1993).

Según la normativa dada por el Consejo Regulador para la elaboración de los jamones “D.O. Teruel”, sólo se pueden emplear perniles procedentes de cerdos cuyo espesor de tocino esté comprendido entre 4 y 7 cm a la altura de la cuarta costilla. Los animales seleccionados no pueden ser reproductores, los machos deberán de estar castrados antes de la entrada en el cebadero y las hembras no deben estar en celo en el momento del sacrificio. Las normas establecen como peso final de sacrificio entre 115 y 130 kg, el animal debe tener como mínimo ocho meses de vida y de ellos, uno y medio corresponde a alimentación con leche y el resto al cebado. Antes del transporte al matadero, en vehículos adecuados para evitar lesiones, los cerdos están en ayuno durante al menos 12 horas y al llegar allí, permanecen como mínimo otras 12 horas antes del sacrificio, con el fin de eliminar la fatiga acumulada y asegurar las reservas de glucógeno muscular, para lo que se les suministra agua con azúcar.

El sacrificio se realiza con aturdimiento por electro-shock y sangrado posterior completo. En la fase de oreo, la canal se mantiene durante un mínimo de 4 horas a una temperatura máxima de 10° C y una humedad relativa del 90% en la primera hora y del 80% en las tres restantes. Una vez realizado el despiece de la canal, los perniles, que no pueden ser en ningún caso taladrados, se perfilan y se conservan durante 14 a 48 horas entre -2 y +2 °C, que es el tiempo necesario para alcanzar esta temperatura en el centro de la pieza.

Después se marcan y se trasladan en camiones isotérmicos, para que no se rompa la cadena de frío, y se llevan a los secaderos ubicados a una altura media de 800 metros.

La elaboración del jamón curado es un proceso tecnológico integrado por una serie de etapas que se detallan a continuación, indicadas en el diagrama de flujo representado en la figura I.3. En los secaderos, se elimina cualquier tipo de contaminación ambiental y se realiza la elaboración que es el proceso completo de transformación del pernil en jamón, que debe tener una duración mínima de doce meses.

La elaboración se compone de una primera fase de curación, necesaria para la buena conservación del producto, y una segunda fase de maduración en la que el jamón evoluciona y desarrolla todas las características organolépticas finales, que determinarán la calidad. A su vez, la fase de curación se compone de cuatro operaciones que son el salado, lavado, postsalado o asentamiento y secado.

Tras el despiece, el control veterinario es exhaustivo; se controla la eliminación de residuos no deseados en el pernil, y se evita la realización de cortes innecesarios que modelen la figura. Se pesa las piezas para determinar su periodo de salazón y se hace el marcaje indeleble con la contraseña MAPA (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación), la semana y el año del inicio del sazonado (Fig. I.7).

La salazón se realiza por el denominado proceso en seco, enterrando los pernils en sal gruesa (Fig. I.8), en contacto directo con las piezas, durante un periodo de tiempo proporcional a los kilos que pesa el pernil, sin exceder nunca los 14 días por orden expresa de la Denominación de Origen.

Una vez terminada la salazón, se lavan las piezas con agua templada para eliminar la sal adherida y se prensan (Fig. I.9). En el lavado los pernils pasan por agua templada para eliminar el exceso de sal que se deposita sobre la corteza; tras la limpieza se añaden los aditivos ya que éste es el único punto del proceso en el que está permitido, siempre respetando los márgenes que marca la Denominación de Origen y dentro de la ley. El uso de ácido bórico para combatir la presencia de ácaros ha quedado totalmente prohibido, dependiendo ahora la eliminación de estos parásitos de la higiene mantenida en las instalaciones.

En el postsalado o asentamiento (Fig. I.10), los pernils se guardan en cámaras a una temperatura de 3-6 °C y humedad del 80-90%, manteniendo estas condiciones constantes durante un periodo de entre 45 a 90 días, para favorecer el desarrollo del proceso de secado, la eliminación de forma paulatina del agua superficial y el reparto homogéneo de la sal por toda la pieza, lo que aumenta la resistencia externa frente a los ácaros. El tiempo de residencia depende del peso

de la pieza, aunque oscila entre 45 y 90 días. Al final de esta fase, el porcentaje de sal sobre el peso total del producto debe ser inferior al 1% referido en peso fresco, tanto en la masa muscular superficial como en la profunda.

En el secado o maduración (Figura I.11) los perniles se trasladan a los secaderos naturales donde se benefician de las condiciones naturales de altura y clima que se combinan en la provincia de Teruel. Un buen asentamiento garantiza que no se produzcan alteraciones microbianas en esta fase, en la que el aumento gradual de la temperatura causa la fusión de la grasa natural que se infiltra posteriormente en la fibra muscular, que se impregna y retiene el aroma. El secado requiere una duración de 6-8 meses, dependiendo del peso concreto de la pieza. La etapa de secado se realiza en secaderos naturales provistos de ventanales con apertura regulable para controlar la ventilación y mantener las condiciones óptimas de humedad relativa y temperatura.

Al pasar el control individual que sufre cada pieza para la designación de la Denominación de Origen de Teruel, se graba al fuego la característica estrella mudéjar de ocho puntas, junto con la palabra Teruel en la parte posterior del jamón (Figura I.12). Los jamones amparados por la Denominación de Origen son de forma alargada, perfilados y con bordes redondeados hasta la aparición del músculo. Conservan la corteza y la pezuña. Su peso está comprendido entre 8 y 9 kg y nunca inferior a 7 kg. De color rojo y aspecto brillante al corte, con grasa parcialmente infiltrada en la masa muscular, con carne de sabor delicado, poco salado y grasa untuosa, brillante, de coloración blanco amarillenta, aromática y de sabor agradable.

Como ya se ha comentado en apartados anteriores, aunque otros tipos de jamón (jamón Ibérico, jamón Serrano, jamón de Parma, ...) han sido ampliamente estudiados (Baldini et al., 1983, Ventanas et al.; 1989, Toldrá et al., 1998a), no hay todavía en la actualidad bibliografía científica disponible sobre este tipo de jamón curado.

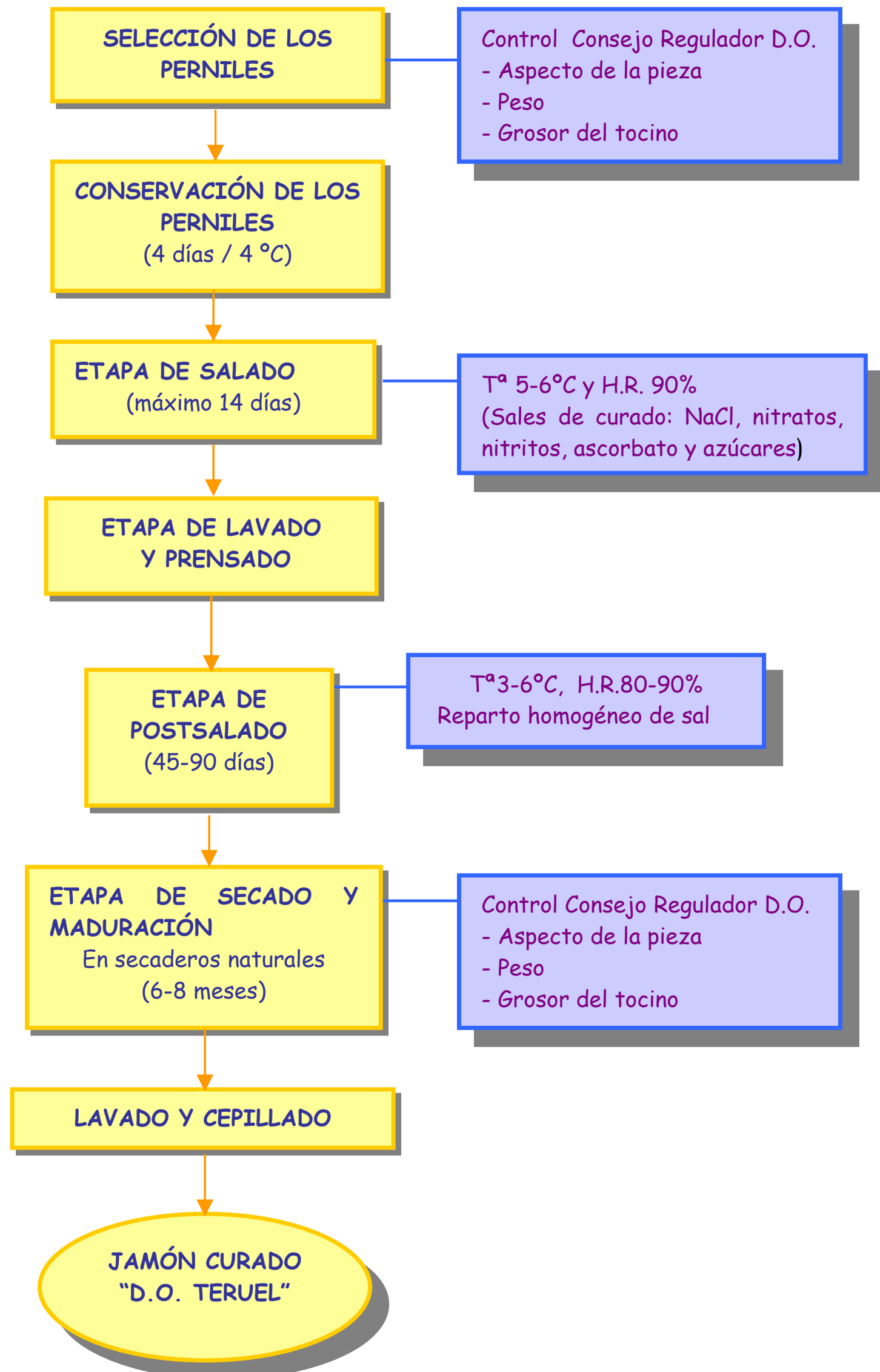


Figura I.3. Diagrama esquemático del proceso de elaboración del jamón curado Denominación de Origen Teruel (Duración total: mínimo 12 meses; Peso mínimo: 7 kg).



Figura I.4. Selección de los perniles destinados a la elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”.



Figura I.5. Salazón de los perniles seleccionados para la obtención de jamón curado “D.O. Teruel”.



Figura I.6. Prensado de las piezas tras la etapa de salado.



Figura I.7. Postsalazón o asentamiento en el proceso de elaboración.



Figura I.8. Maduración de las piezas del jamón curado “D.O. Teruel”.



Figura I.9. Jamón curado “D.O. Teruel”.

II. OBJETIVOS Y PLAN EXPERIMENTAL

II. OBJETIVOS Y PLAN EXPERIMENTAL

II.1. OBJETIVOS

La presente tesis doctoral tiene como objetivo general la caracterización química y microestructural del jamón curado Denominación de Origen Teruel.

Para cubrir este objetivo general se plantean los siguientes objetivos particulares, donde se estudiarán los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del jamón curado “D.O. Teruel”, así como la grasa asociada al músculo *biceps femoris*:

- 1- Estudio de la evolución de los principales componentes químicos durante el proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”.
- 2- Estudio de la proteólisis durante el proceso de elaboración. Estudio de la evolución de las proteínas y de diversas actividades enzimáticas implicadas en la degradación proteica.
- 3- Estudio de la lipólisis durante el proceso de elaboración. Estudio de la evolución de los componentes lipídicos en la grasa intramuscular y en la grasa asociada al músculo *biceps femoris*.
- 4- Estudio de la evolución de la microestructura durante el proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”, mediante Microscopía Electrónica de Barrido a bajas Temperaturas, Microscopía Electrónica de Barrido, Microscopía Óptica y Microscopía Electrónica de Transmisión.
- 5- Estudio de la penetración de las sales de curado mediante el análisis potenciométrico de cloruros y por microanálisis EDX acoplado a Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

II.2. PLAN EXPERIMENTAL

Los objetivos que se plantean en este trabajo, se intentan alcanzar con el siguiente plan de trabajo:

- 1- Diseño de experiencias.
- 2- Búsqueda y estudio bibliográfico de forma continuada durante la realización de la tesis. Estudio de la normativa y protocolos a seguir en la parte experimental.
- 3- Seguimiento del proceso y toma de muestras. Se toman muestras de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, así como de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* a lo largo del proceso industrial. Estas muestras se someten a los análisis que se detallan en los siguientes apartados.
- 4- Estudio de la evolución de los principales parámetros químicos:
 - 4.1.- Determinación de humedad (norma UNE), cenizas (norma ISO), contenido de cloruros (método potenciométrico), cuantificación de las proteínas totales (N-Kjeldahl) y cuantificación de lípidos (método de Soxhlet) en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*.
 - 4.2.- Determinación de humedad (norma UNE), cenizas (norma ISO) y contenido en cloruros (método potenciométrico) en la grasa asociada al músculo *biceps femoris*.
- 5- Estudio de la proteólisis durante el proceso de elaboración en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*.

5.1.- Extracción por ultracentrifugación de la fracción proteica total, sarcoplásmica (Nitrógeno soluble) y miofibrilar. Cuantificación de los extractos obtenidos (fracción proteica total y fracción sarcoplásmica) por N-Kjeldahl.

5.2.- Estudio de los extractos proteicos obtenidos mediante electroforesis en geles de poliacrilamida con SDS (SDS-PAGE).

5.3.- Estudio de la fracción de componentes de bajo peso molecular (3-17 kDa) en los extractos proteicos obtenidos mediante electroforesis en geles de poliacrilamida con SDS (SDS-PAGE).

5.4.- Cuantificación por densitometría de todas las fracciones proteicas estudiadas por SDS-PAGE.

5.5.- Estudio de la evolución de la actividad enzimática. Se estudia la actividad enzimática catepsina B + L, B, D y actividad enzimática piroglutamilaminopeptidasa I y dipeptidilpeptidasa IV.

6- Estudio de la evolución de la fracción lipídica durante el proceso de elaboración en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, así como en la grasa asociada al músculo *biceps femoris*.

6.1.- Extracción de la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* y de la grasa asociada al *biceps femoris* por el método de Folch.

6.2.- Fraccionamiento de los extractos lipídicos totales obtenidos y separación de las fracciones de monoglicéridos, diglicéridos, triglicéridos, ácidos grasos libres y fosfolípidos por Cromatografía en Capa Fina.

6.3.- Estudio de la composición en ácidos grasos de los extractos lipídicos totales, así como de las fracciones obtenidas en el apartado 6.2, por Cromatografía de Gases.

6.4.- Estudio de la evolución de los índices de calidad de la fracción lipídica: índice de acidez (norma UNE), índice de peróxidos (norma UNE), e índice de yodo (norma UNE) en la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* así como en la grasa asociada al músculo *biceps femoris*.

7- Estudio de la evolución de la microestructura durante el proceso de elaboración en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, así como de la grasa asociada al músculo *biceps femoris*.

7.1.- Estudio por Cryo-Microscopía Electrónica de Barrido (Cryo-SEM) y Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

7.2.- Estudio por Microscopía Óptica (LM). Obtención de secciones semifinas (1.5 μm) a partir de bloques incluidos en resina epoxi.

7.3.- Estudio por Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM). Obtención de secciones ultrafinas (0.1 μm) a partir de bloques incluidos en resina epoxi.

8- Estudio de la penetración de sal a través de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, durante el proceso de elaboración. Análisis de los cloruros (método potenciométrico) a distintos niveles de profundidad en los músculos estudiados. Aplicación de la técnica de detección por rayos X o Microanálisis SEM-EDX, y estudio comparativo.

9- Redacción de informes.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III.1. MATERIA PRIMA

Se utilizan perniles y jamones que se obtienen a lo largo del proceso de elaboración de jamón curado Denominación de Origen Teruel (“D.O. Teruel”) (Fig. III.1) que transcurre durante 12 meses desde que los perniles son seleccionados hasta el producto acabado; todas las muestras son proporcionadas por una empresa del sector.

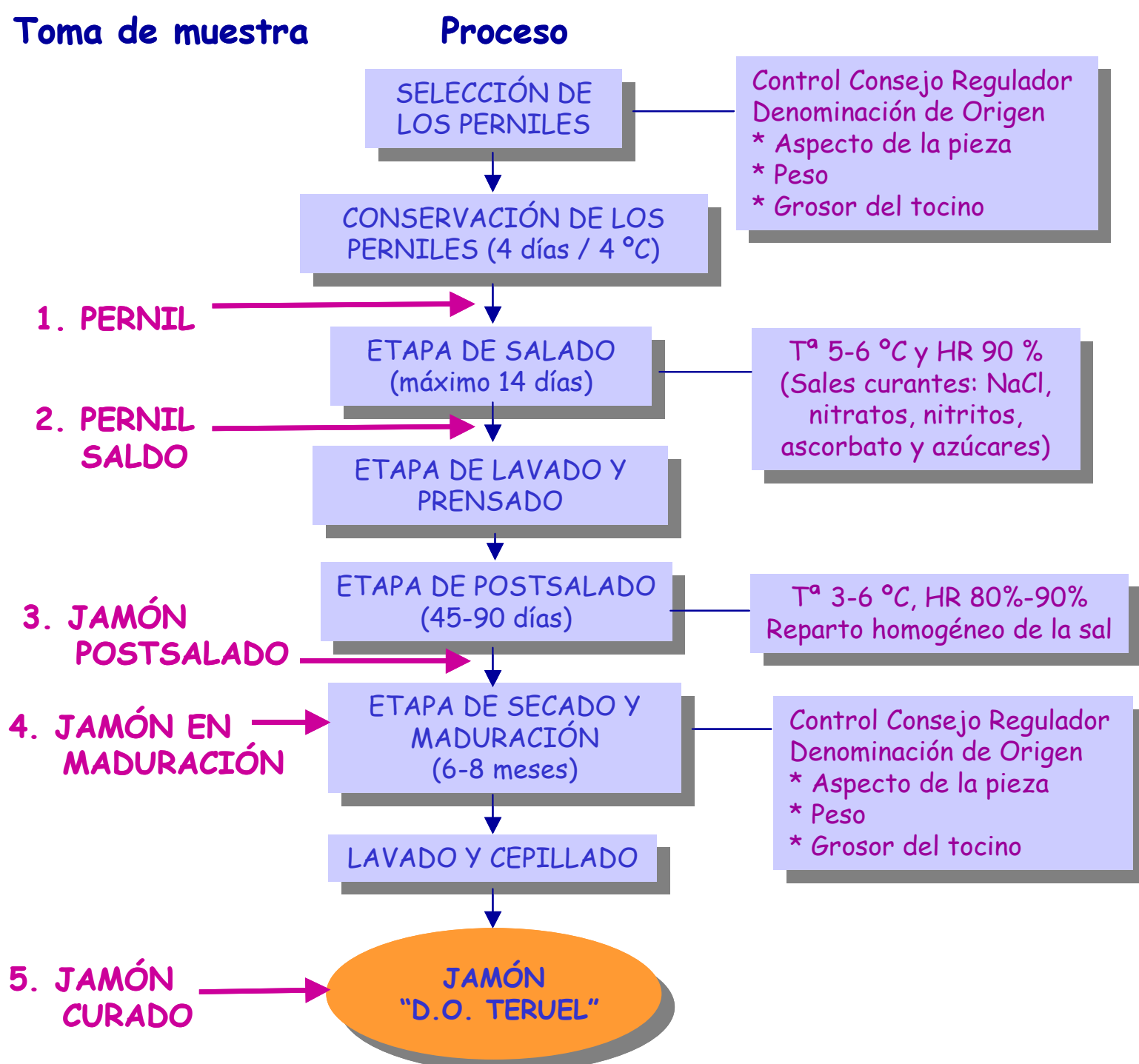


Fig. III.1. Diagrama esquemático del proceso de elaboración del jamón curado “D.O. Teruel”. Toma de muestra: 1: perniles, 2: piezas obtenidas después de la etapa de salado o perniles salados, 3: piezas obtenidas después de la etapa de postsalado o jamón postsalado, 4: piezas obtenidas a mitad de la etapa de maduración o jamones en maduración y 5: piezas obtenidas al final del proceso o jamones curados “D.O. Teruel”.

La toma de muestras a lo largo del proceso se esquematiza en la figura III.1; se analizan perniles (4 días después del sacrificio del animal), muestras obtenidas una vez finalizada la etapa de salado, después de la etapa de postsalado, a mitad de la etapa de maduración y al final del proceso, jamones “D.O. Teruel”. Se estudian 3 piezas de cada punto del proceso de elaboración.

Los perniles utilizados provienen de cerdo blanco, de animales que descienden por línea paterna de la raza *Landrace* (tipo estándar) o *Duroc* y de línea madre de la raza *Landrace* (tipo estándar), *Large White* o cruce de ambas. Los animales cumplen con la normativa actual de la “D.O. Teruel” (BOE, 1993).

Las muestras estudiadas corresponden a tres procesos de elaboración de tres años consecutivos (2000, 2001, 2002). Se comienza el muestreo en el mes de Enero, y se sigue el proceso de elaboración para la obtención de muestras de los puntos seleccionados en el estudio.

Cada muestra se divide en lonchas de 3 cm de espesor que se obtienen en sección transversal con respecto al eje mayor del jamón; tal y como se indica en el esquema de la figura III.2 solo se utilizan las lonchas centrales de cada pieza (5, 6 y 7), se identifican los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, así como el tejido adiposo o grasa subcutánea asociada al músculo *biceps femoris*, y se diseccionan. Las muestras se trituran y homogeneizan en un molino GRINDOMIX GM 200 (RETSCH), y se envasan a vacío en bolsas de plástico termosellables y se almacenan en congelación (-18°C) hasta su análisis. Las muestras destinadas a los análisis microscópicos se procesan inmediatamente.

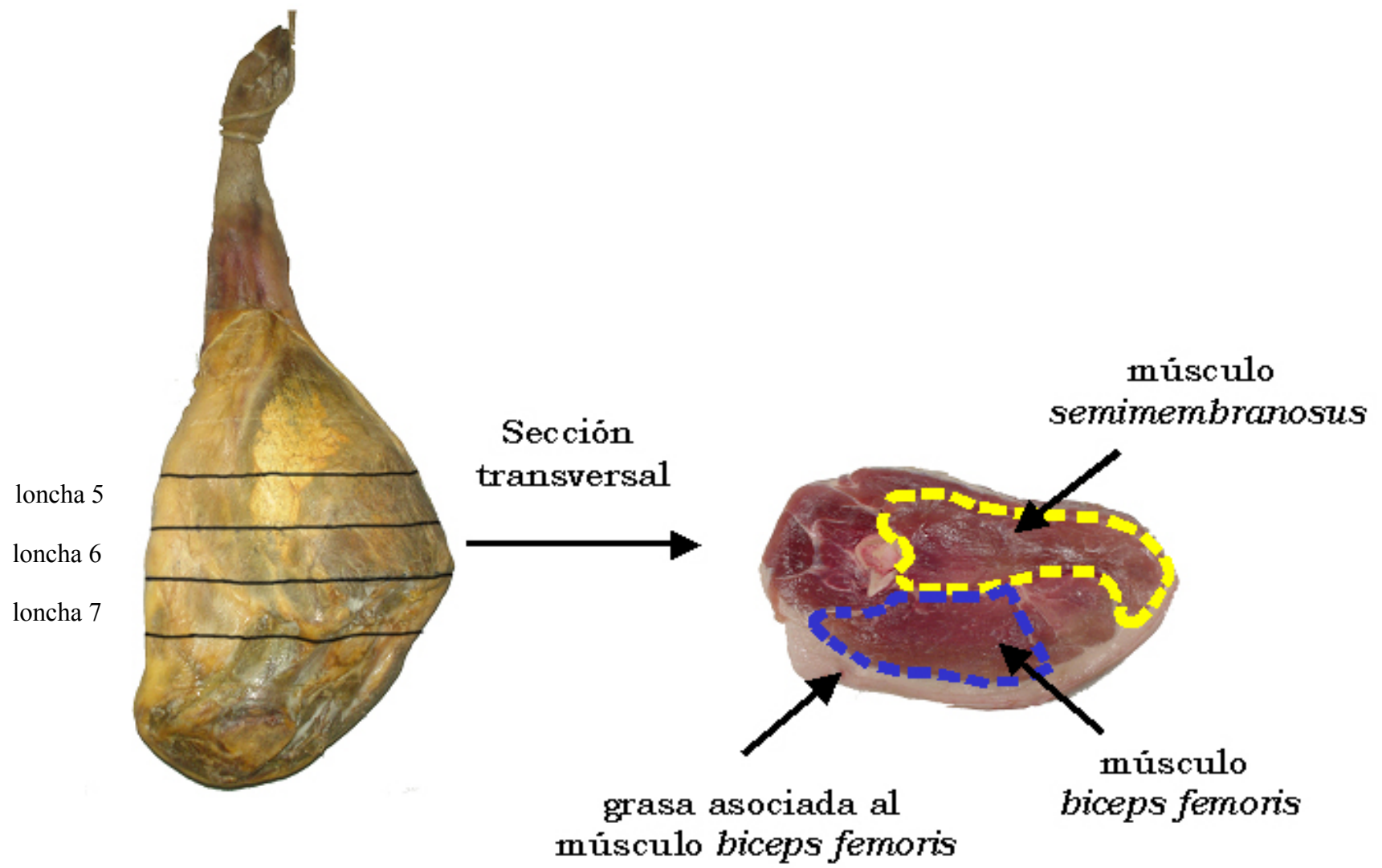


Fig. III.2. Esquema de obtención de lonchas transversales respecto al eje mayor del jamón (loncha 5, loncha 6 y loncha 7: lonchas objeto de estudio) y disección de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, y de la grasa asociada al músculo *biceps femoris*.

III.2. METODOLOGÍA

III.2.1. HUMEDAD

III.2.1.1. Humedad en el Tejido Muscular

Se determina la humedad de todas las muestras, en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* por desecación en estufa hasta peso constante, según la norma UNE 34 552 h2.

III.2.1.2. Humedad en el Tejido Adiposo Asociado (Grasa Subcutánea)

Se determina la humedad de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* por desecación hasta peso constante según la norma UNE 55-082-73.

III.2.2. CENIZAS

El contenido en cenizas de todas las muestras en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, y de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* se determina mediante el método descrito en la norma ISO-R936. Las cenizas son el residuo que queda tras calcinar la muestra a 550° C hasta peso constante.

III.2.3. CLORUROS

El contenido en cloruros de todas las muestras en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* y en la grasa asociada al músculo *biceps femoris* se determina mediante un medidor digital de Cl⁻ (modelo 926 Chloride Analyzer, SHERWOOD). Así mismo el análisis de cloruros para estudiar la concentración y penetración de la sal en diferentes zonas se realiza coincidiendo con las orientaciones Norte, Sur, Este y Oeste de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil y jamón curado “D.O. Teruel” (Fig. III.3). Para el estudio de la distribución longitudinal de

las sales en jamón curado se escogieron las lonchas transversales al eje principal del jamón, y se analizó de cada una de ellas la concentración de cloruros existente como se describe a continuación.

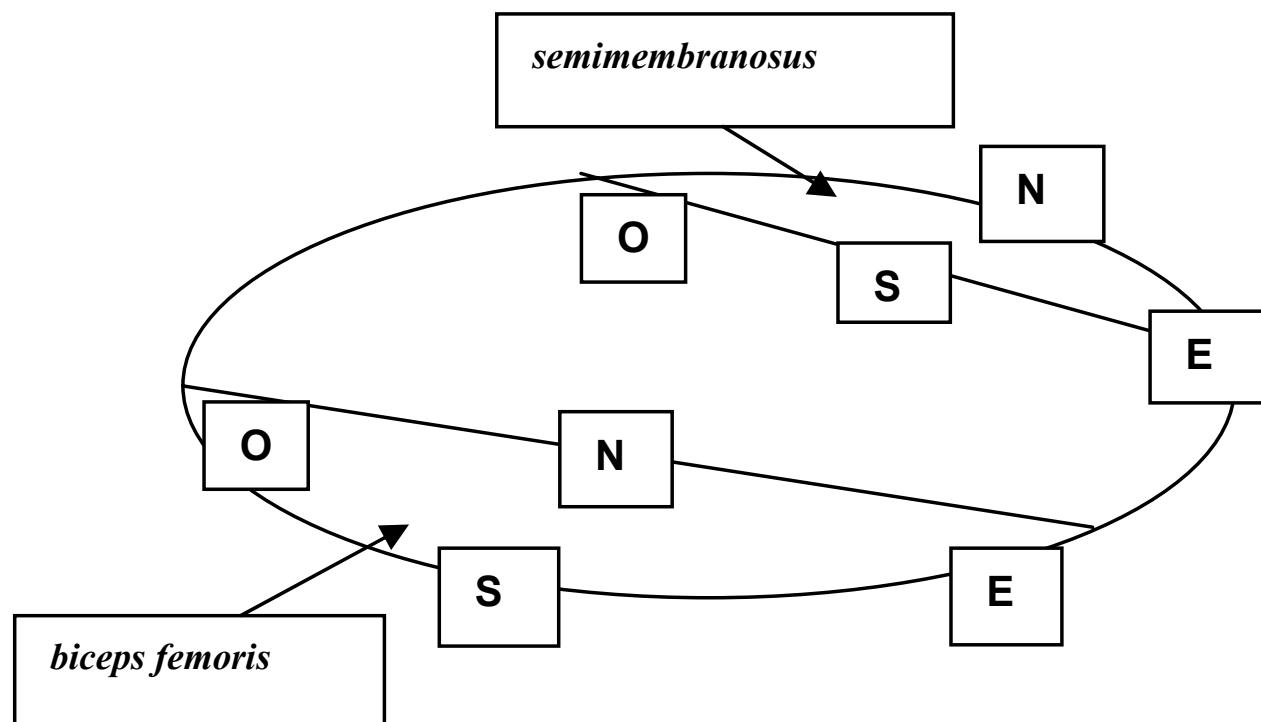


Fig. III.3. Diagrama de una sección transversal. Toma de muestra. N: zona norte, S: zona sur, E: zona este, O: zona oeste.

Los cloruros se han determinado mediante un medidor digital de Cl^- en el extracto de carne acompañado de tampón ácido, por el principio análogo a una valoración argentométrica tradicional utilizando nitrato de plata y formándose una sal muy insoluble (AgCl).

El equipo *SHERWOOD 926* (clorurímetro) lee automáticamente los iones Cl^- mediante la generación de una corriente eléctrica entre dos electrodos de plata, que da lugar a la aparición de iones Ag^+ . Estos iones de Ag^+ reaccionan con los iones Cl^- de la muestra precipitando AgCl , el cual se mantiene en suspensión por un estabilizante coloidal. Durante el periodo de valoración la lectura digital se adapta aproximadamente cada 0,3 segundos. En este periodo el número de iones de plata introducidos en la muestra se combina con una unidad medida de ión cloruro. Cuando todo el Cl^- ha sido precipitado como AgCl , los iones libres de plata presentes alteran la conductividad de la disolución. El cambio de conductividad es detectado por los electrodos sensibles que dan la lectura directa en miligramos de cloruros por mililitros de disolución.

Para el análisis de cloruros, previamente se diseccionó los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* en diferentes orientaciones (Figura II.2.): Norte, Sur, Este y Oeste, con el objeto de estudio de la concentración y penetración de la sal en las diferentes zonas de los músculos. Para el estudio de la distribución longitudinal de las sales en jamón curado se escogieron diferentes lonchas transversales al eje principal del jamón, y se analizó de cada una de ellas la concentración de cloruros existente como se describe a continuación.

Para el análisis de cloruros en los perniles se pesaron 3 - 4 g de carne congelada triturada y homogeneizada de cada orientación y del músculo completo. Se ultratritura con 50 mL de agua bidestilada en un Ultraturrax modelo T25 (Janke and Kunkel, Staufen, Germany) 3 min. Se enrasa a 100 mL y se centrifuga a 3500 rpm durante 15 min (Labofuge 400, HERAEUS INSTRUMENTS). La lectura de cloruros se realiza automáticamente y el resultado se obtiene en mg Cl⁻/L disolución. Para la determinación de cloruros en jamón curado se siguió el mismo procedimiento a diferencia de la dilución que se hizo a 250 mL, y para la determinación en tocino o grasa se aforó hasta 50 mL.

Para realizar la medida se utiliza una disolución tampón ácido combinado (CH₃COOH 100g/L y HNO₃ =9 g/L) como soporte electrolítico, el cual mantiene el pH correcto para completar el ciclo de valoraciones; también consta de un estabilizador coloidal para prevenir la precipitación. Las lecturas se repitieron tres veces, aceptando diferencias entre los valores menores de 5 mg de Cl⁻ / L de disolución. Para el cálculo de la concentración de NaCl se utiliza la siguiente expresión:

$$X^{NaCl} = \frac{LxVx58,5}{Px10^6 x35,5}$$

Siendo:

L: media de las lecturas del clorurímetro (mg Cl⁻ / L)

V: volumen de la disolución en mL

P: peso de la muestra en g

X^{NaCl}: g de NaCl / g muestra (b.h.)

III.2.4. PROTEÍNAS

III.2.4.1. Extracción de proteínas

Se extraen las proteínas totales, sarcoplásmicas y miofibrilares de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de cada una de las muestras estudiadas en el proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”.

III.2.4.1.a. Proteínas totales

Se pesan 2 g de muestra triturada y homogeneizada en un tubo de centrifuga y se añade 50 mL de disolución de imidazol 0.01 M, que contiene 2 % de SDS y 2 % de β -mercaptoetanol (pH 7). Se homogeneiza con el ultraturrax, se hierve 10 min y se deja en reposo 15-18 h a temperatura ambiente. Se centrifuga a 4000 g durante 15 min y se filtra. El extracto sobrenadante contiene las proteínas totales.

III.2.4.1.b. Proteínas sarcoplásmicas

Se toma la cantidad de muestra triturada y homogeneizada necesaria que contenga una cantidad de proteínas de 500 mg (basado en la determinación del método Kjeldahl, ver apartado III.2.4.2.a), se añade 20 mL de disolución tampón fosfato de potasio 0.03 M (pH 7.4). Se homogeneiza con ultraturrax y se centrifuga a 4000 g durante 15 min. Se recoge el sobrenadante y al pellet resultante se le adiciona de nuevo 20 mL de tampón fosfato de potasio 0.03 M (pH 7.4), se dispersa el pellet y se repite la operación de extracción por centrifugación. Se recoge el sobrenadante junto con el anterior. Este sobrenadante contiene las proteínas sarcoplásmicas y el pellet se utiliza para la extracción de proteínas miofibrilares cuyo protocolo se describe a continuación.

III.2.4.1.c. Proteínas miofibrilares

El pellet resultante de la extracción de proteínas sarcoplásmicas se redisuelve en 45 mL de disolución de imidazol 0.01 M, que contiene 2 % de SDS y 2 % de β -mercaptoetanol (pH 7) y se hierve 10 min. se deja en reposo 15-18 h a temperatura ambiente. Se centrifuga a 4000 g durante 15 min y se filtra. El extracto sobrenadante contiene las proteínas miofibrilares.

III.2.4.2. Cuantificación de proteínas por el método N-Kjeldahl

III.2.4.2.a. Proteínas totales

La determinación del contenido proteico de las muestras se realiza por el método Kjeldahl, que consiste en la valoración del nitrógeno total de la muestra, sometida previamente a una serie de reacciones que lo liberan de los distintos compuestos nitrogenados en los que se halla. Se determina según el método de la AOAC-928.08 (1997).

III.2.4.2.b Proteínas sarcoplásmicas

Se valora el contenido proteico de los extractos de proteínas sarcoplásmicas obtenidas según el protocolo descrito en el apartado III.2.4.1.b. de las distintas muestras estudiadas en el proceso de elaboración del jamón “D.O. Teruel”.

La determinación se realiza por el método de Micro-Kjeldahl en 2 mL de extracto, al que se añade una pequeña cantidad de catalizador (Cu-TiO₂), y 5 mL de ácido sulfúrico; después de la digestión, el destilado se recoge en un erlenmeyer que contiene aproximadamente 25 mL de agua y unas gotas de indicador de Tashiro (azul de metileno y rojo de metileno al 1 % en etanol). La valoración se realiza con HCl 0.01 N. Se realiza también una prueba en blanco.

El contenido en N-soluble y en proteínas sarcoplásmicas de las muestras se determina a partir de las siguientes fórmulas:

$$\text{Nitrógeno soluble} = \frac{(V_2 - V_1) \times N}{V} \times 1.4 \times 100$$

$$\text{Proteínas sarcoplásmicas} = \text{Nitrógenos soluble} \times 6.25$$

Siendo:

Nitrógeno soluble: (g N / 100 g muestra (b.h.))

Proteínas sarcoplásmicas: (g proteína / 100 g muestra (b.h.))

V: Volumen de extracto de proteínas sarcoplásmicas (mL)

V₁: Volumen de disolución de ácido clorhídrico gastado en la prueba en blanco (mL)

V₂: Volumen de disolución de ácido clorhídrico gastado en la muestra extracto (mL)

N: Normalidad del ácido clorhídrico

III.2.4.3. Electroforesis SDS-PAGE

El estudio de las fracciones de proteínas totales, proteínas sarcoplásmicas y proteínas miofibrilares se lleva a cabo según el método de Greaser et al., (1983). El estudio de los péptidos en estas mismas fracciones se lleva a cabo según el método de Schagger & von Jagow (1987) modificado.

III.2.4.3.a. Preparación de las muestras

Los extractos de proteínas totales, proteínas sarcoplásmicas y proteínas miofibrilares obtenidos según los protocolos descritos en los apartados III.2.4.1.a, III.2.4.1.b y III.2.4.1.c, respectivamente, se procesan según se describe a continuación:

- Proteínas totales: a partir del extracto de proteínas totales (III.2.4.1.a.), previamente filtrado, se prepara una disolución de 5 mg / mL de proteína total (basado en la determinación de N por el método Kjeldahl, aptdo. III.2.4.2.a.) que contiene 0.1 mg/mL de seroalbúmina bovina (BSA). Se añade también una cantidad de sacarosa cristalina (~ 20% sobre el porcentaje total) y azul de Coomassie G250 (~ 0.3 mg/mL). Finalmente se siembran 10 μ L de esta disolución para el desarrollo electroforético según el método de Greaser et al., (1983) y 30 μ L para el desarrollo electroforético de la fracción de péptidos según el método de Schägger & von Jagow (1987).
- Proteínas sarcoplásmicas: a partir del extracto de proteínas sarcoplásmicas (III.2.4.1.b.), previamente filtrado, se prepara una disolución que se estima que contiene 4 mg de proteína / mL de disolución, con 2 % de SDS, 2 % de β -mercaptoetanol y 0.1 mg de BSA /mL de disolución. Se añade también una cantidad de sacarosa cristalina (~ 20 % sobre el porcentaje total) y azul de bromofenol sólido. Finalmente se siembran 10 μ L de esta disolución para el desarrollo electroforético según el método de Greaser et al., (1983) y 40 μ L para el desarrollo electroforético de la fracción de péptidos según el método de Schägger & von Jagow (1987).
- Proteínas miofibrilares: a partir del extracto de proteínas miofibrilares, (III.2.4.1.c.), previamente filtrado, se prepara una disolución con 0.1 mg de BSA /mL de disolución. Se añade también una cantidad de sacarosa cristalina (~ 20% sobre el porcentaje total) y azul de bromofenol sólido. Finalmente se siembran 7 μ L de esta disolución para el desarrollo electroforético según el método de Greaser et al., (1983) y 30 μ L para el desarrollo electroforético de la fracción de péptidos según el método de Schägger & von Jagow (1987).

III.2.4.3.b. Estudio electroforético (SDS-PAGE) de las fracciones de proteínas totales, sarcoplásmicas y miofibrilares

El estudio de las fracciones de proteínas totales, proteínas sarcoplásmicas y proteínas miofibrilares se lleva a cabo según el método de Greaser et al., (1983).

Reactivos

Acrilamida, bis-acrilamida, Tris (tris hidroximetil amino metano), persulfato amónico, TEMED (N,N,N',N'-tetrametil etilén diamina), SDS (dodecil sulfato sódico), glicina, imidazol, β -mercaptoetanol, azul de Coomassie (G-250), azul de Coomassie (R-250), ácido ortofosfórico concentrado, ácido acético, metanol.

Disoluciones

- **Disolución 1:** 30 g de acrilamida, y 0.15 g de bis-acrilamida en 100 mL de agua bidestilada
- **Disolución 2:** 10 g de acrilamida, 0.5 g de bis-acrilamida en 100 mL de agua bidestilada
- **Disolución 3:** Tris 3 M, pH 8.8
- **Disolución 4:** Tris 0.5 M pH 6.8
- **Disolución 5:** SDS 10 %
- **Disolución 6:** Tampón cátodo concentrado (5x): Tris 0.25 M, glicina 1.92 M, y SDS al 0.5 %
- **Disolución 7:** Tampón ánodo concentrado (5x): Tris 1.00 M, pH 8.9
- **Disolución 8:** Persulfato amónico (100 mg/mL)
- **Disolución 9:** imidazol 0.01 M con 2 % de SDS y 2 % de β -mercaptoetanol, (pH 7.0)
- **Disolución 10:** Disolución de fijación: metanol/ácido acético/agua (20/10/70)
- **Disolución 11:** Disolución de tinción: 1 g de azul de Coomassie (R 250) en 1 L de metanol / agua destilada / ácido fosfórico (20/78/0.2)
- **Disolución 12:** Disolución para desteñir: metanol/ácido acético/agua (20/10/70)

Preparación del gel

Se preparan dos geles que difieren en el porcentaje de monómeros totales (T) y en el porcentaje de monómeros entrecruzadores (C):

- Gel de Concentración o *Stacking* (3% T y 4.76% C): 6 mL **disolución 2**, 5 mL **disolución 4**, 0.2 mL **disolución 5**, 8.70 mL agua destilada, 100 μ L **disolución 8** y 30 μ L de TEMED.

- Gel de Resolución o *Separating* (12% T y 0.5 % C): 24 mL **disolución 1**, 15 mL **disolución 3**, 0.6 mL **disolución 5**, 20 mL agua destilada, 150 μ L **disolución 8** y 50 μ L de TEMED.

Se vierte primero el gel de resolución entre los cristales de electroforesis (separador de 1 mm) hasta aproximadamente 3.5 cm de la parte superior de los cristales y cuando éste gelifica, se vierte el segundo gel de concentración, colocando en su interior el peine que servirá de mole para la formación de pocillos donde se depositará la muestra.

Equipo y condiciones electroforéticas

Se utiliza un equipo de electroforesis para geles verticales (Hoefer Scientific Instruments, SE 600 series), que dispone de una fuente de alimentación Power Supply (Pharmacia, tipo ECPS 2000/300). El gel, previamente polimerizado entre los cristales, y con las muestras depositadas en los correspondientes pocillos, se introduce en una cubeta que se mantiene refrigerada con agua corriente durante el desarrollo electroforético; se llena el depósito superior del aparato con tampón cátodo (**disolución 6**) hasta cubrir los electrodos, y se llena el depósito inferior con tampón ánodo (**disolución 7**), para favorecer el paso de la corriente.

El desarrollo de las proteínas a través del gel se lleva a cabo a una intensidad de corriente constante (± 60 mA) y un voltaje inicial de 50 V que se incrementa hasta 200 o 300 V al final del proceso. La electroforesis se lleva a cabo durante 4-7 h,

hasta que el frente colorante esté aproximadamente a 1 cm del final del gel. Se procede a separar los geles de los cristales y se introducen durante 1 hora en 500 mL de disolución fijadora (**disolución 10**). Posteriormente se introducen los geles en disolución de tinción (**disolución 11**) durante 15 h y posteriormente se destiñen los geles en la **disolución 12** durante 12 h, tras las cuales se realiza un lavado cada 15 min hasta eliminar todo el colorante del fondo del gel de forma que se visualicen claramente las bandas de proteínas. Los geles obtenidos según el procedimiento descrito, se leen en un densitómetro modelo GS-670 de Bio Rad, que interpreta los resultados con el programa Molecular Analyst versión 1.1 y proporciona los densitogramas para cada una de las carreras electroforéticas o electroforegramas.

Se usa el patrón indicado en la tabla III.1, específico para resolver proteínas de intervalo de pesos moleculares 17-100 kDa.

Tabla III.1. Proteínas Patrón

| Proteína | Pm (kDa) |
|------------------------|----------|
| α - Actinina | 100 |
| BSA | 68 |
| Actina | 46 |
| β - Tropomiosina | 36 |
| Miosina LC1 | 25 |
| Troponina I | 24 |
| Troponina C | 20 |
| Miosina LC2 | 18 |
| Mioglobina | 17 |

(Pm): Peso molecular; BSA: Seroalbúmina bovina

III.2.4.3.c. Estudio electroforético (SDS-PAGE) de la fracción de péptidos

El estudio de los péptidos en las fracciones de proteínas totales, proteínas sarcoplásmicas y proteínas miofibrilares se lleva a cabo según el método de Schägger & von Jagow (1987) modificado.

Reactivos

Acrilamida, bis-acrilamida, Tris (tris hidroximetil amino metano), persulfato amónico, TEMED (N,N,N',N'-tetrametil etilén diamina), SDS (dodecil sulfato sódico) Azul de Coomassie (G-250), tricina, glicina y glicerol.

Disoluciones

- **Disolución 1:** 40 g de acrilamida, y 2 g de bis-acrilamida en 100 mL de agua bidestilada
- **Disolución 2:** 40 g de acrilamida en 100 mL de agua bidestilada
- **Disolución 3:** 2 g de bis-acrilamida en 100 mL de agua bidestilada
- **Disolución 4:** 36.34 g de Tris y 0.3 g de SDS en 100 mL, pH 8.45
- **Disolución 5:** Tampón cátodo: Tris 0.1 M, tricina 0.1 M y SDS (0.1%), pH 8.3
- **Disolución 6:** Tampón ánodo concentrado (5x): Tris 1 M, pH 8.9
- **Disolución 7:** Persulfato amónico (100 mg/mL)
- **Disolución 8:** Disolución de fijación: metanol/ácido acético/agua (20/10/70)
- **Disolución 9:** Disolución de tinción: 1 g de azul de Coomassie (R 250) en 1 L de metanol / agua destilada / ácido ortofosfórico (20/78/0.2)
- **Disolución 10:** Disolución para desteñir: metanol / ácido acético / agua (20/10/70)

Preparación del gel

El gel está formado por tres partes, en los que varía el porcentaje de monómeros totales (T) y el de monómeros entrecruzadores (C):

- Gel de concentración o *Stacking* (4 % T y 3 % C): 1.94 mL la **disolución 2**, 1.2 mL **disolución 3**, 5 mL **disolución 4**, 11.66 mL agua bidestilada, 200 μ L **disolución 7** y 50 μ L de TEMED.
- Gel espaciador o *Spacer* (10 % T y 3 % C): 2.43 mL **disolución 2**, 1.5 mL **disolución 3**, 3.33 mL **disolución 4**, 2.59 mL agua bidestilada, 40 μ L **disolución 7** y 30 μ L de TEMED.
- Gel de resolución o *Separating* (14 % T y 4 % C): contiene 10 % de glicerol. 16 mL **disolución 1**, 4 mL **disolución 2**, 17 mL **disolución 4**, 6.7 g glicerina, 14.7 mL agua bidestilada, 170 μ L **disolución 7** y 50 μ L de TEMED.

Se vierte primero el gel de resolución entre los cristales de electroforesis con un (separador de 1 mm) hasta aproximadamente 3.5 cm de la parte superior de los cristales y cuando éste gelifica, se vierte el gel espaciador hasta aproximadamente 1.2 cm de la parte superior de los cristales. Cuando éste gelifica, se vierte el gel de concentración colocando en su interior el peine que servirá de molde para la formación de pocillos donde se depositará la muestra.

Equipo y condiciones electroforéticas.

Se utiliza un equipo de electroforesis para geles verticales (Hoefer Scientific Instruments, SE 600 series), que dispone de una fuente de alimentación Power Supply (Pharmacia, tipo ECPS 2000/300). El gel, previamente polimerizado entre los cristales, y con las muestras depositadas en los correspondientes pocillos, se introduce en una cubeta que se mantiene refrigerada con agua corriente durante el desarrollo electroforético; se llena el depósito superior del aparato con tampón cátodo (**disolución 5**) hasta cubrir los electrodos, y se llena el depósito inferior con tampón ánodo (**disolución 6**), para favorecer el paso de la corriente.

El desarrollo de las proteínas a través del gel se lleva a cabo a una intensidad de corriente constante (± 100 mA) y un voltaje inicial de 90 V que se incrementa hasta 200 o 300 V al final del proceso. La electroforesis se lleva a cabo durante 7-8 horas, hasta que el frente colorante esté aproximadamente a 1 cm del final del gel.

Se procede a separar los geles de los cristales y se introducen durante toda la noche en 500 mL de disolución fijadora (**disolución 8**). Posteriormente se introducen los geles en disolución de tinción (**disolución 9**) durante 72 h y posteriormente se destiñen los geles en la **disolución 10** durante aproximadamente 7 h, haciendo lavados con disolución nueva hasta eliminar todo el colorante del fondo del gel de forma que se visualicen claramente las bandas. Los geles obtenidos según el procedimiento descrito, se leen en un densitómetro de imagen modelo GS-670 de Bio Rad, que interpreta los resultados con el programa Molecular Analyst versión 1.1 y proporciona los densitogramas para cada una de las carreras electroforéticas o electroforegramas.

Se usa el patrón externo indicado en la tabla III.2, específico para resolver péptidos de intervalo de pesos moleculares 3-26 kDa.

Tabla III.2. Proteínas Patrón

| Proteína | Pm (kDa) |
|--------------------------|----------|
| Triosa fosfato isomerasa | 26.6 |
| Mioglobina | 17 |
| α -Lactoalbúmina | 14.2 |
| Aprotinina | 6.5 |
| Insulina (cadena B) | 3.4 |

Pm (peso molecular)

III.2.4.3.d. Cuantificación de proteínas

Se cuantifican las bandas de proteínas obtenidas en los distintos desarrollos electroforéticos de proteínas totales, proteínas sarcoplásmicas y proteínas miofibrilares a partir de los correspondientes densitogramas. La concentración se expresa como equivalentes de BSA ($\mu\text{g BSA} / \text{g de proteína}$). El BSA se usa como standard interno. La concentración se determina a partir de la siguientes fórmulas:

$$\text{Proteínas totales} = \frac{\text{Área proteína}}{\text{Área BSA}} \times \frac{a}{b} \times 1000$$

Las proteínas se expresan como μg equivalentes de BSA/ mg de proteína total.

Donde:

$a = \mu\text{g}$ de BSA en el volumen de muestra sembrado

$b = \mu\text{g}$ de proteína en el volumen de muestra sembrado

$$\text{Proteínas sarcoplásmicas} = \frac{\text{Área proteína}}{\text{Área BSA}} \times a \times \frac{b}{c} \times \frac{1}{0.5}$$

las proteínas sarcoplásmicas se expresan como μg equivalentes de BSA / mg de proteína sarcoplásmica.

Donde:

$a = \mu\text{g}$ de BSA en el volumen de muestra sembrado

$b = \text{volumen obtenido en la extracción de proteínas sarcoplásmicas (mL)}$

$c = \text{volumen de muestra sembrado } (\mu\text{L})$

$$\text{Proteínas miofibrilares} = \frac{\text{Área proteína}}{\text{Área BSA}} \times a \times \frac{b}{c} \times \frac{1}{0.5}$$

las proteínas miofibrilares se expresan como μg equivalentes de BSA / mg de proteína miofibrilar.

Donde:

$a = \mu\text{g}$ de BSA en el volumen de muestra sembrado

$b = \text{volumen obtenido en la extracción de proteínas miofibrilares (mL)}$

$c = \text{volumen de muestra sembrado } (\mu\text{L})$

III.2.4.3.e. Cuantificación de péptidos

La concentración se expresa como equivalentes de citocromo C ($\mu\text{g CC} / \text{g}$ de carne o g de proteína). El citocromo C se usa como standard externo. Cada banda del standard externo contiene exactamente $1 \mu\text{g}$ de citocromo C.

$$\text{Péptidos} = \frac{\text{Área péptido}}{\text{Área CC}} \times \frac{a}{b} \times 1000$$

Los péptidos se expresa como μg de CC/ mg de proteína total.

Donde:

$a = \mu\text{g}$ de CC en el volumen de muestra sembrado

$b = \mu\text{g}$ de proteína en el volumen de muestra sembrado

III.2.4.4. Actividad enzimática

Se estudia la actividad proteolítica de diferentes proteasas (Catepsinas B, D y L) y peptidasas (Piroglutamilaminopeptidasa I y Dipeptidilpeptidasa IV). A continuación se describen las metodologías para la determinación de estas actividades enzimáticas:

III.2.4.4.a. Actividad de las Catepsinas B Y L

La determinación de la actividad de catepsinas B y L se basa en el método de Etherington et al., (1987). En este trabajo se determinan las actividades de catepsinas (B + L) y catepsina B.

Se pesan 3 g de carne triturada y homogeneizada y se adiciona 27 mL de tampón de ácido cítrico (0.1 M) que contiene 2 mL de Triton X-100 ($\text{pH } 5$); se homogeneiza con ultraturrax, se centrifuga a 4000 g durante 15 min y se mide el volumen del extracto.

La actividad enzimática se mide con un Fluorímetro TURNER modelo 112 conectado a un registrador (Kipp and Zonen CAT I recorder) ajustado a 10 mV, con una velocidad del papel de 10 mm/min. El fluorímetro está acoplado a un baño termostático ajustado a 37 °C.

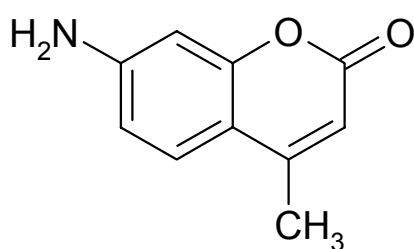
Disoluciones

- **Disolución de tampón activante:** Se pesa 277 mg de cisteina.HCl.H₂O, se añade 39.5 mL de tampón fosfato y se diluye a 100 mL con una disolución de 0.1 % de Brij 35 (éter polioxietilénláurico). Se ajusta el pH a 5.5 y se diluye con disolución de Brij 35 al 0.1 % hasta 150 mL.

- **Disolución de sustrato:** se prepara una disolución 1 nM en dimetilsulfóxido de N-carbobenzoxy-L-arginil-L-arginina-7-amino-4-metilcumarina (Z-ARG-ARG-NHMeC) para la determinación de catepsina B o N-carbobenzoxy-L-fenilalanil-L-arginina-7-amino-4-metilcuarina (Z-PHE-ARG-NHMeC) para la determinación de catepsinas B +L . Se diluye 25 veces en disolución de Brij 35 al 0.1 %.

Para la determinación de la actividad enzimática se mezcla 100 µL del extracto diluido, 3.80 mL de **disolución de tampón activante** a 37 °C y 100 µL de **disolución de sustrato**.

Durante la reacción, el sustrato se degrada y se libera 7-amino-4-metilcumarina (NHMeC). Este producto es marcadamente fluorescente y la liberación se registra en continuo. La determinación se realiza por excitación a 355 nm y por emisión a 460 nm. Una vez comienza la reacción y se estabiliza la señal, ésta se registra durante 10 min y se obtiene una línea recta cuya pendiente se calcula.



7-amino-4-metilcumarina

La actividad se calcula como:

$$\text{Actividad enzimática} = h \times 0.572 \times V \times f$$

Donde:

Actividad enzimática: nmol NHMec que se liberan por min y por g de carne fresca

h: pendiente de la línea registrada (en cm / min)

V: mL de extracto obtenidos en la extracción con tampón de ácido cítrico (0.1 M)

f: factor de dilución

III.2.4.4.b. Actividad de la Catepsina D

La determinación de la actividad catepsina D se basa en el método de Barret et al., (1981).

Se pesan 3 g de carne triturada y homogeneizada, se añade 25 mL de tampón ácido cítrico 0.1 M que contiene 2 mL de Triton X-100 (pH 5.0); se homogeneiza con ultraturrax y se centrifuga a 4000 g durante 15 min. Se filtra y se recoge el extracto obtenido.

Se calienta a 37 °C 10 min 1 mL de hemoglobina 3 % y 1 mL de tampón ácido fórmico pH 3.2 (94.3 mL en 1 L). La incubación se realiza por triplicado en tres tubos de centrifuga. A uno de ellos, que actuará como blanco, se le añade 20 μ L de pepstatina A, inhibidor de la catepsina D (50 μ M en etanol absoluto); a los tres tubos se añade 1.5 mL del extracto de catepsina D obtenido. La incubación se detiene por adición de 1 mL de ácido tricloroacético 10 %. Se mezcla, se filtra y se determina la cantidad de triptófano en el filtrado según el método Messineo & Musarra (1972).

Se refrigera 15 min 0.7 mL del filtrado (por duplicado para cada tubo con extracto o blanco), se añade 2.10 mL de reactivo colorante (126 mL H₂SO₄ al 75 %, 4-5 mL de fructosa (1mg / mL) y 4-5 mL de cisteína 2.5 %, se mezclan y se mantienen a 45 °C 15 min y luego se dejan enfriar). Se mezcla cuidadosamente y se mantiene 1 h a temperatura ambiente, se determina la absorbancia a 515 nm

(A₅₁₅) en un espectrofotómetro CECIL CE 1020 con una cubeta de 1 cm de lado. La cantidad de hemoglobina degradada se calcula usando la siguiente curva patrón:

$$[Hemoglobina] = 0.8748(A_m - A_{bl}) + 0.0016 \quad r = 0.9996$$

(mg/mL)

Donde:

A_m = absorbancia de la muestra a 515 nm

A_{bl} = absorbancia del blanco a 515 nm

La actividad enzimática de la catepsina D se expresa como:

$$\text{Actividad enzimática de la catepsina D} = \frac{c \times V_1 \times V_2 \times 1000}{g \times t \times V_3}$$

Donde:

Actividad enzimática de la catepsina D = μg hemoglobina degradada / min / g carne (b.h.)

c = concentración de hemoglobina degradada en mg / mL

V_1 = V total de la cubeta (mL)

V_2 = V total de extracto (mL)

V_3 = V de extracto analizado (mL)

g = g de carne

t = tiempo de incubación

III.2.4.4.c. Actividad de las enzimas Piroglutamilaminopeptidasa I y Dipeptidilpeptidasa IV

La determinación de la actividad de las enzimas Piroglutamilaminopeptidasa I (PGAP I) y Dipeptidilpeptidasa IV (DPP IV) se realiza según Blanchard et al., (1993) y McDonald et al., (1986).

Se pesa 3 g de carne triturada y homogeneizada y se adiciona 25 mL de tampón pH 7.5 Tris-acetato (50 mM), con EDTA (2mM) y ditiotreitól (2 mM); se homogeneiza con ultraturrax, se centrifuga a 2500 g durante 15 min, y se filtra. Se diluye al 3 % en agua para la determinación de la actividad de la PGAP I y al 50 % en agua para la determinación de la actividad de la DPP IV.

La actividad enzimática se mide con un fluorímetro de las mismas características que el descrito en el apartado III.2.4.4.a, a una longitud de onda de excitación de 355 nm y a una longitud de onda de emisión de 460 nm.

Disoluciones

- **Disolución de tampón activante:** se pesa 277 mg de cisteína.HCl.H₂O, se añade 39.5 mL de tampón fosfato y se diluye a 100 mL con una disolución de 0.1 % de Brij 35 (éter polioxietilénláurico). Se ajusta el pH a 5.5 y se diluye con disolución Brij 35 al 0.1 % hasta 150 mL.

- **Disolución de sustrato:** se prepara una disolución 1 nM en dimetilsulfóxido de glicilprolilaminometilcumarina (Gly-Pro-NHMeC) para la determinación de DPP VI o piroglutamilaminometilcumarina (Pyr-NHMeC) para la determinación de PGAP I. Se diluye 25 veces en disolución de Triton al 0.1 %.

Para la determinación de la actividad enzimática se mezcla 100 µL del extracto diluido, 3.80 mL de **disolución de tampón activante** a 37 °C y 100 µL de **disolución de sustrato**.

Durante la reacción, el sustrato se degrada y se libera 7-amino-4-metilcumarina (NHMeC). Este producto es marcadamente fluorescente y la liberación se registra en continuo. Se determina por excitación a 370 nm y por emisión a 460 nm. Una vez comienza la reacción y se estabiliza la señal, ésta se registra durante 10 min y se obtiene una línea recta cuya pendiente se calcula. La actividad se calcula como:

$$\text{Actividad enzimática} = h \times 0.572 \times V \times f$$

Donde:

Actividad enzimática: nmol NHMeC que se liberan por min y por g de carne (b.h.)

h: pendiente de la línea registrada (en cm / min)

V: mL de extracto obtenido

f: factor de dilución

III.2.5. LÍPIDOS

III.2.5.1. Extracción y cuantificación por el método Soxhlet

Se procede a la extracción de la grasa intramuscular a partir de las muestras de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*. Para ello las muestras de carne trituradas y homogeneizadas se liofilizan en un liofilizador Telstar Lioalfa-6 que trabaja a 10^{-3} mbar con condensador a -45° C, durante 48 h. Las muestras liofilizadas se pulverizan en un mortero. Se realiza una extracción Soxhlet con éter de petróleo durante 16 h y posteriormente el disolvente se elimina en rotavapor a 70° C durante 2 h.

La cantidad de lípidos extraídos se calcula según la siguiente fórmula:

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

Donde:

P_0 = Peso del matraz vacío (g)

P_1 = Peso final del matraz con los lípidos extraídos (g)

P_2 = Peso inicial de la muestra (g)

III.2.5.2. Análisis de ácidos grasos por Cromatografía de Gases

III.2.5.2.a. Extracción de la grasa

Se obtienen muestras trituradas y homogeneizadas de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* y de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, y se extrae la grasa con cloroformo/metanol (2/1) (método de Folch et al., 1957).

III.2.5.2.b. Análisis de la composición en ácidos grasos totales

A partir de las muestras de grasa obtenidas según el protocolo descrito en el apartado III.2.5.2.a se obtienen los ésteres metílicos por derivatización con NaOH 0.5 N en metanol, de acuerdo con el método oficial de la AOAC (1997). Se analizan los ésteres metílicos en un cromatógrafo HP 6890 con un inyector sobre columna CP-Sil 88 (100 m x 0.25 μ m x 0.2 μ m de Chrompack) y detector de ionización de llama. El gas portador es hidrógeno (P = 1.6 bar)

Las condiciones de trabajo son las siguientes:

- Inyector: 250 °C
- Detector: 280 °C
- Temperatura inicial: 150 °C durante 2 min
- Primer calentamiento: 1 °C /min hasta alcanzar 158 °C
- Temperatura final: 158 °C durante 22 min
- Segundo calentamiento: 1 °C /min hasta alcanzar 200 °C

Para la identificación y cuantificación de los ácidos grasos en base a su tiempo de retención, se utilizan los estándares proporcionados por Sigma (Belgium), Larodan (Sweden) y NuChek Prep. (USA).

III.2.5.2.c. Análisis de las fracciones de glicéridos, fosfolípidos y ácidos grasos libres

A partir de los extractos obtenidos en el apartado III.2.5.2.a. se realiza la siembra en placas de cromatografía en capa fina cubiertas con silica G. Las placas se saturan primero con una mezcla hexano/éter dietílico/ácido acético (70/30/2), y posteriormente con una mezcla hexano/éter dietílico/ácido acético (40/60/1.3). Se identifican las diferentes fracciones: triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos libres y fosfolípidos (Fig III.4). Con ayuda de una espátula se transfiere el silica Gel de las diferentes fracciones a tubos donde se procede a la precipitación de este silica Gel, y a la extracción de los ácidos grasos de las

diferentes fracciones con cloroformo/metanol (1/2). Posteriormente se realiza la metilación de los ácidos grasos por derivatización con NaOH 0.5 N en metanol, de acuerdo con el método oficial de la AOAC (1997). Los ésteres metílicos se analizan por Cromatografía de Gases en las mismas condiciones que en el apartado III.2.5.2.b.

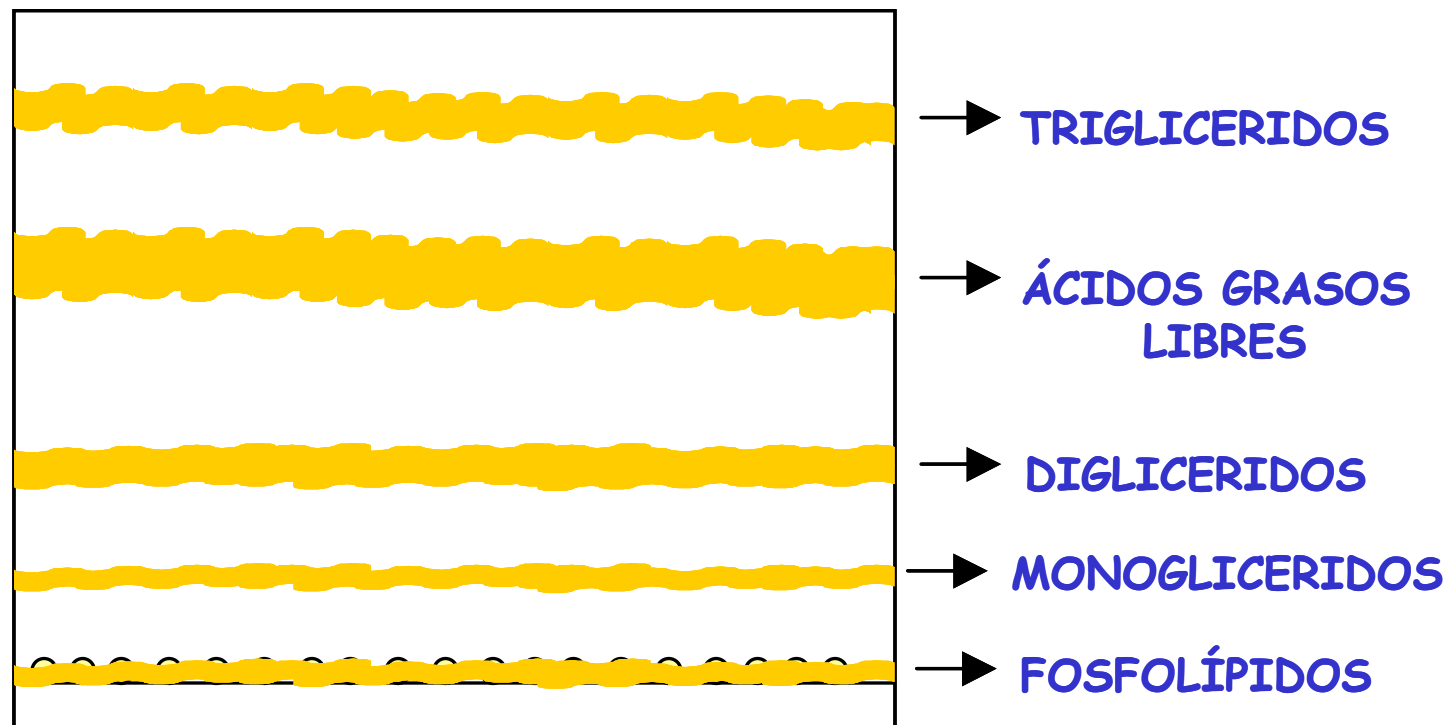


Fig. III.4. Esquema del desarrollo cromatográfico en capa fina de los extractos de grasa.

III.2.5.3. Índices de Acidez, de Peróxidos y de Yodo

Se determinan los índices de acidez, de yodo y de peróxidos de la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, así como del tocino o grasa asociada al músculo *biceps femoris*, en las siguientes muestras: pernil, pernil salado y jamón “D.O. Teruel”.

La preparación de la muestra es diferente según se trate de la grasa intramuscular o de la grasa asociada al músculo *biceps femoris*. La grasa intramuscular se extrae por el método de Soxhlet (apartado III.2.5.1) y la grasa asociada al músculo *biceps femoris* se tritura y se deja al baño María a 40° C hasta su fusión. Una vez fundida, se filtra a vacío con papel Whatman n°4 y se pesa.

III.2.5.3.a. Índice de acidez

El índice de acidez indica el número de miligramos de hidróxido potásico necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres contenidos en un gramo de materia seca. La acidez de las muestras se determina según la norma UNE 55011. La acidez de las muestras se expresa como grado de acidez.

III.2.5.3.b. Índice de peróxidos

Se denomina índice de peróxidos a los miliequivalentes de oxígeno activo contenidos en un kilogramo de materia ensayada, calculados a partir del yodo liberado de un exceso de yoduro potásico. Las sustancias que oxidan al yoduro potásico en las condiciones del ensayo son peróxidos u otros productos de oxidación de la grasa, por lo que el índice obtenido puede tomarse como una expresión cuantitativa de los peróxidos de la grasa. El índice de peróxidos se determina según la norma UNE 55-023-73.

III.2.5.3.c. Índice de Yodo

El índice de yodo es una expresión cuantitativa del grado de insaturación de la grasa, que representa convencionalmente el número de gramos de yodo fijados por cada 100 g de muestra. El índice de yodo se determina según la norma UNE 55013.

III.2.6. TÉCNICAS MICROSCÓPICAS

La caracterización de la microestructura se lleva a cabo mediante las técnicas de Microscopía Electrónica de Barrido a bajas temperaturas (Cryo-SEM), Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), Microscopía Óptica (LM) y Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM).

III.2.6.1. Microscopía Electrónica de Barrido a bajas Temperaturas (Cryo-SEM)

Se obtienen muestras de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, así como de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* para ser observadas por Cryo-SEM.

Las muestras recién obtenidas se sumergen en N₂ nieve a temperatura $\leq -210^{\circ}$ C, y se transfieren rápidamente a un Cryo-Trans CT1x500C de Oxford Instruments acoplado a un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 5410, que trabaja en condiciones de congelación ($T < -130^{\circ}$ C) a vacío (1 kPa).

En el Cryo-Trans la muestra se fractura a -180° C con ayuda de un pequeño punzón. Opcionalmente, la muestra se introduce en la cámara del microscopio para ser sublimada a -90° C, con el fin de eliminar el posible exceso de escarcha superficial que pueda enmascarar la adecuada observación de la muestra.

Finalmente, antes de proceder a su estudio, la muestra se recubre con Au en el mismo Cryo-Trans (0.2 kPa y 40 mA). Una vez metalizada, se introduce en el microscopio a 15 kV y a distancia de trabajo de 15 mm para la obtención de imágenes.

III.2.6.2. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Se cortan cubos de muestra de 2-3 mm³ con hoja de acero inoxidable y se introducen en disolución fijadora (glutaraldehído al 2,5 % en tampón fosfato 0.025M, pH 6.8) a 4°C durante 24 h. Transcurrido este tiempo, se elimina la disolución fijadora mediante lavados sucesivos en disolución de tampón fosfato 0.025M (pH 6.8), que se renueva cada hora hasta 5 veces. A continuación, se sumergen en disolución fijadora de tetróxido de osmio al 2% en tampón fosfato 0.05M, pH 6.8. Esta disolución también se elimina con lavados en tampón fosfato 0.025M (pH 6.8) de 15 minutos cada uno. Se deshidrata la muestra en una serie de disoluciones acuosas de etanol (10, 20, 40, 60, 80 %) cada 20 minutos, y en etanol

al 100 % (3 cambios de 20 minutos). Finalmente, las muestras se ultradeshidratan por la técnica de punto crítico con CO₂ en un equipo Polaron E3000.

Antes de su observación por SEM, las muestras se montan sobre soportes adecuados, con ayuda de plata coloidal, y se metalizan con oro en un equipo BAL-TEC SCD 005 a vacío (10⁻⁵ kPa) con una corriente de ionización de 40 mA durante 90 s.

Una vez metalizadas, las muestras están preparadas para ser observadas en el microscopio electrónico de barrido JEOL 6300 a 15 kV y distancia de trabajo de 15 mm.

III.2.6.3. Microscopía Óptica (LM)

Para el estudio por LM se obtienen muestras de aproximadamente 1-2 mm³. A continuación se someten a un proceso de fijación con glutaraldehído (2,5 %) y tras su lavado con tampón fosfato 0.025M, se postfijan con tetróxido de osmio (2 %), se deshidratan con series graduales de etanol, se contrastan con acetato de uranilo (4 %), se infiltran y se incluyen en resina ULV (65.5 °C, 3 días).

Con ayuda de un ultramicrotomo (REICHERT-JUNG ULTRACUT) se cortan los bloques para obtener secciones semifinas (1.5 µm), que se tiñen con azul de toluidina al 1 %. Tras la tinción, las muestras se secan y se fijan en un portaobjetos de vidrio. Se observan por campo claro en un Microscopio Óptico Nikon Eclipse E800.

III.2.6.4. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

Para su observación por TEM, la preparación de las muestras es la misma que para LM. Sin embargo para TEM, los bloques se cortan por ultramicrotomía (REICHERT-JUNG ULTRACUT) en secciones ultrafinas de aproximadamente 0.10 µm de espesor. Estas secciones se recogen sobre rejillas de cobre y se tiñen con

citrato de Pb (4 %) y acetato de uranilo (2 %). Las muestras se observan en un Microscopio Electrónico de Transmisión Philips EM 400 a 80 kV.

III.2.6.5. Microanálisis por Dispersión de Energías de rayos X (EDX)

El estudio de penetración de la sal a distintos niveles de profundidad en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de los perniles y jamones curados se realiza por microanálisis EDX (*Energy Dispersive Spectrometer X-Ray*), donde se utiliza la señal que proporciona el cloro.

Las muestras recién cortadas (2 mm³ aproximadamente), se congelan instantáneamente en nitrógeno líquido durante 1 min, y rápidamente se introducen en un liofilizador *Lioalfa-6/Telsar*. Estas muestras se obtienen de las diferentes zonas en las que se divide el músculo: Norte, Sur, Este y Oeste, para el estudio de penetración de la sal (ver aptdo. III.2.3, fig. III.2). Las condiciones de trabajo son 1 Pa y -45 °C de temperatura. Cada muestra, así fijada, se cierra a vacío en viales adecuados en el mismo liofilizador, de modo que son estables hasta su posterior metalización con carbono.

El carbono se utiliza con mucha frecuencia para el microanálisis de rayos X, debido a que las líneas de emisión características del recubrimiento metálico convencional con oro podían dificultar la búsqueda de los elementos de la muestra.

El microanálisis por EDX se realiza mediante SEM convencional, puesto que el microscopio JEOL 6300 está dotado de detector para rayos X y sistema LINK para su procesado.

Los estándares que se utilizan para la calibración cuantitativa de las energías dispersivas de los espectros obtenidos por rayos X son: C (grafito), O (cuarzo), Na (albita), Si (cuarzo), P (fosfuro de galio), S (pirita), Cl (cloruro de potasio) y K (ortoclasa). El sistema LINK-ISIS dispone internamente de la información de esos

estándares, y el usuario debe actualizar dicha calibración periódicamente, cada tres o cuatro horas de trabajo, para lo que se recurre al menú adecuado del programa.

Las determinaciones se realizan a 20 kV, una distancia de trabajo de 15 mm y una intensidad de corriente de 60 nA.

III.2.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

El análisis estadístico de los resultados se lleva a cabo mediante análisis de la varianza (ANOVA) y se calculan diferencias mínimas significativas (LSD) al nivel de significación ≤ 0.05 . Se emplea el programa estadístico Statgraphics 4 asistido por ordenador.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo se presentan en cuatro grandes apartados que intentan dar una visión general de los cambios químicos y microestructurales más significativos que tienen lugar durante el proceso de elaboración del jamón curado Denominación de Origen Teruel (“D.O. Teruel”).

En un primer apartado se lleva a cabo una caracterización de la materia prima y se observa la evolución de los diferentes parámetros químicos más relevantes durante el proceso de elaboración.

En el segundo y tercer apartados se profundiza en los cambios químicos relacionados con los fenómenos proteolíticos y lipolíticos, que determinan de forma decisiva las características sensoriales del producto final.

Por último se lleva a cabo un amplio estudio de la evolución de la microestructura a lo largo del proceso mediante el uso de diferentes técnicas microscópicas complementarias, como son la Microscopía Electrónica de Barrido a bajas Temperaturas (cryo-SEM), la Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), la Microscopía Óptica (LM) y Microscopía de Transmisión (TEM). Como complemento a los estudios microestructurales se realiza un seguimiento de la distribución de la sal a diferentes profundidades en el jamón curado por microanálisis SEM-EDX.

IV.1. EVOLUCIÓN DE LOS PRINCIPALES PARÁMETROS QUÍMICOS

En este apartado se presentan los resultados obtenidos en el análisis de los principales componentes químicos durante la elaboración del jamón “D.O. Teruel”.

Se analizan las proteínas y los lípidos como componentes mayoritarios, determinantes de las principales propiedades fisico-químicas y estructurales del producto en las diferentes etapas del proceso de elaboración.

Por otra parte el estudio de la evolución de la humedad, en paralelo a la de los cloruros y cenizas, informa de cómo transcurre el fenómeno de difusión de la sal en los músculos estudiados. El salado de la materia prima es una de las etapas más importantes de la elaboración de este producto cárnico curado.

La nomenclatura utilizada para identificar las muestras estudiadas en distintos puntos del proceso es la siguiente (los tiempos se refieren a los plazos transcurridos después del sacrificio): se denomina **muestra 1** al pernil (t = 4 días); **muestra 2** al pernil salado obtenido después de la etapa de salado (t = 15 días), **muestra 3** al jamón postsalado obtenido después de la etapa de postsalado (t = 2.5 meses); **muestra 4** al jamón en maduración obtenido a mitad de la etapa de maduración (t = 6.5 meses) y por último **muestra 5** al jamón curado “D.O. Teruel” que es el producto final (t = 12 meses).

IV.1.1. EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO EN PROTEÍNAS, GRASA Y AGUA

En la tabla IV.1 se observa los valores medios de la humedad, proteínas, y grasa obtenidos para los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* durante el proceso de elaboración.

Tabla IV.1. Porcentajes de humedad (g agua/ 100 g muestra), proteínas (g proteína / 100 g muestra b.h.) y grasa (g grasa / 100 g muestra b.s.) en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, para pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valor medio, S: desviación típica).

| | | Humedad | | Proteínas | | Grasa | |
|-------------------------------|---|------------------------|------|-----------------------------------|------|--------------------------------|-------|
| | | g agua / 100 g muestra | | g proteína / 100 g muestra (b.h.) | | g grasa / 100 g muestra (b.h.) | |
| Muestra | | X | S | X | S | X | S |
| <i>biceps femoris</i> | 1 | 74.61 | 0.51 | 20.08 | 0.06 | 3.38 | 0.54 |
| | 2 | 72.19 | 0.42 | 21.15 | 0.36 | 2.14 | 0.20 |
| | 3 | 71.73 | 0.27 | 20.89 | 0.25 | 2.23 | 0.026 |
| | 4 | 66.51 | 0.18 | 21.16 | 0.35 | 4.40 | 0.02 |
| | 5 | 57.70 | 0.47 | 26.06 | 0.02 | 3.58 | 0.38 |
| <i>semimembranosus</i> | 1 | 74.77 | 0.49 | 20.91 | 0.20 | 2.84 | 0.23 |
| | 2 | 69.28 | 1.45 | 21.81 | 0.09 | 1.27 | 0.23 |
| | 3 | 64.45 | 0.87 | 23.27 | 0.39 | 2.51 | 0.01 |
| | 4 | 58.61 | 0.09 | 26.05 | 1.68 | 5.88 | 0.09 |
| | 5 | 47.75 | 0.63 | 36.71 | 2.86 | 6.51 | 0.08 |

La humedad en el músculo *biceps femoris* del pernil es 74.61 %, disminuye en pernil salado a 72.19 % y después de la etapa de postsalado alcanza 71.73 %. Posteriormente, se produce un descenso en la primera mitad de la maduración hasta 66.51 % que continúa hasta 57.70 % en el jamón curado, lo que supone una disminución de humedad de 22 % respecto del pernil.

En el caso del músculo *semimembranosus*, la humedad en el pernil es de 74.77 % y en el pernil salado es de 69.28 %. Durante la etapa de postsalado se produce un descenso hasta 64.45 %, que continúa durante la maduración hasta 58.61 %. En jamón curado la humedad es 47.75 %, lo que supone una reducción de 36 % respecto de la materia prima original.

La humedad a lo largo del proceso de elaboración del jamón disminuye por dos motivos: tras la etapa de salado, debido al efecto osmótico producido por la sal, y por otra parte, se produce una disminución de la humedad por deshidratación debido a las condiciones (T^a , humedad) en las que transcurre el proceso de elaboración. La situación del músculo *biceps femoris*, cubierto de piel y de grasa, dificulta la salida de agua y explicaría los valores más altos encontrados en este músculo si se compara con el músculo *semimembranosus* a partir de la etapa de postsalado. Es interesante destacar que valores más altos de humedad pueden ir asociados a una mayor actividad proteolítica en el músculo *biceps femoris* tal y como se comprueba en apartados posteriores de este trabajo (IV.2.3), determinante en el proceso estudiado.

Estos valores de humedad en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, coinciden con los descritos por otros autores para jamón Serrano, jamón Ibérico, jamón de Bayona (Arnau *et al.*, 1995; Monin *et al.*, 1997; Price *et al.*, 1994; Armero, 1998; Córdoba *et al.*, 1994; García-Garrido *et al.*, 1999).

El porcentaje medio proteínas de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de los diferentes puntos durante el proceso de elaboración de jamón “D.O. Teruel” se presentan en la tabla IV.1. La proteína total es de 20.08 % en el músculo *biceps femoris* de pernil y 20.91 % en el músculo *semimembranosus*. Estos valores varían progresivamente a lo largo del proceso, y en el jamón curado “D.O. Teruel” el porcentaje final de proteína total es de 26.06 % en el músculo *biceps femoris* y de 36.71 % en *semimembranosus*. Se produce una concentración de los componentes proteicos que se relaciona básicamente con la pérdida de humedad; estos resultados son coincidentes con los obtenidos en el análisis del nitrógeno total (aptdo. IV.2.1) como era de esperar.

A este resultado puede también contribuir una pérdida por difusión hacia el exterior de componentes de bajo peso molecular generados por una marcada proteólisis durante el proceso (Flores *et al.*, 1984; Martín *et al.*, 1998a; Antequera *et al.*, 1994): el sentido de la difusión sería desde el músculo *biceps femoris* hacia el músculo *semimembranosus*, debido precisamente a su distribución espacial en la pieza del jamón, como ya se ha comentado para el caso de la humedad.

Estos valores coinciden con los citados en bibliografía para la carne de cerdo (Belitz *et al.*, 1997; Ordoñez *et al.*, 1998) y se corresponden con aproximadamente un 20 % de proteína total tanto en el músculo *biceps femoris* como en el *semimembranosus*.

En la tabla IV.1 se muestran los porcentajes de la grasa intramuscular, determinada como fracción lipídica extraída por el método de Soxhlet, a partir de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del pernil, pernil salado, jamón postsalado, jamón en maduración y jamón “D.O. Teruel”.

El porcentaje de grasa intramuscular en el músculo *biceps femoris* es 3.38 % y en el *semimembranosus* 2.84 %, en el pernil. Estos valores son del mismo orden que los descritos por otros autores también para carne de cerdo (Ordóñez *et al.*, 1998; Armero *et al.*, 2002; Price *et al.*, 1994). Se trata de grasa intramuscular situada en los espacios entre haces celulares, junto con el tejido conjuntivo perimisial, que es más abundante en el músculo *biceps femoris*. En el jamón curado, el porcentaje de grasa intramuscular es 3.58 % en el músculo *biceps femoris* y 6.51 % en el músculo *semimembranosus*.

Se destaca en ambos músculos una importante disminución de los compuestos lipídicos extraídos después de la etapa de salado. Es posible que la alta concentración de sal tras la etapa de salado dificulte la determinación de la grasa en las condiciones experimentales en que se realiza.

En el jamón curado aunque aparentemente se produce un aumento de los compuestos lipídicos (3.58 % y 6.51 % en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, respectivamente), este efecto se atribuye a la importante pérdida de humedad, especialmente en el músculo *semimembranosus*. Realmente, si se calcula el contenido en grasa en base seca, se aprecia una disminución de los compuestos lipídicos en el músculo *biceps femoris* desde 13.13 % en pernil hasta 8.45 % en jamón curado, y en el músculo *semimembranosus* desde 14.20 % en el pernil hasta 12.46 % en el jamón curado, que se podría atribuir a la importante lipólisis que tiene lugar; la oxidación que se produce en este proceso, origina una disminución de los compuestos liposolubles extraídos.

IV.1.2. EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO EN CLORUROS Y EN CENIZAS

Durante la elaboración del jamón curado una de las etapas más relevantes es la etapa de salado. En esta etapa se utilizan las denominadas sales de curado cuya composición consiste fundamentalmente en cloruro sódico. El salado constituye la primera fase de estabilización del producto, implica una reducción de la cantidad de agua disponible, al elevar la fuerza iónica del medio y produce un aumento de la solubilidad de las proteínas musculares, favoreciendo así la manifestación de sus propiedades tecnológicas.

En la tabla IV.2 se presentan los valores medios de la humedad, cenizas, y cloruros calculados para los músculos *biceps femoris*, y *semimembranosus*, así como para la grasa asociada al músculo *biceps femoris*, obtenidos durante el proceso de elaboración.

Los valores de NaCl (g NaCl / 100 g muestra) obtenidos por potenciometría en el análisis de cloruros de las muestras estudiadas a lo largo del proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel” se presentan en la tabla IV.2; se estudia la evolución de los cloruros en el músculo *biceps femoris* y en el *semimembranosus*, así como en la grasa asociada al músculo *biceps femoris*. El porcentaje de NaCl en el músculo *biceps femoris* de pernil es de 0.89 %, tras el salado el porcentaje es de 5.15 % y este valor aumenta tras la etapa de postsalado hasta 8.58 % lo que indica que durante esta etapa continua la difusión de NaCl hacia este músculo más interno. En la primera mitad de la maduración se produce un gran aumento de la cantidad de cloruros hasta 16.17 % y este valor es de 15.71 % en el jamón curado. Estos valores finales más altos se atribuyen a la concentración de la sal por la importante disminución de humedad que tiene lugar durante los últimos 9 meses del proceso, en las etapas de secado y maduración.

Tabla IV.2. Porcentajes de humedad (g agua/ 100 g muestra), cloruros (g NaCl / 100 g muestra b.h.) y cenizas (g cenizas / 100 g muestra b.h.) en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, y en la grasa asociada al músculo *biceps femoris* para pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valores medios; S: desviación típica).

| | | Humedad g agua / 100 g muestra | | Cloruros g NaCl / 100 g muestra (b.h.) | | Cenizas g cenizas / 100 g muestra (b.h.) | |
|-------------------------------|---|--------------------------------------|------|--|------|--|------|
| Muestra | | X | S | X | S | X | S |
| <i>biceps femoris</i> | 1 | 74.61 | 0.51 | 0.89 | 0.24 | 1.04 | 0.03 |
| | 2 | 72.19 | 0.42 | 5.15 | 0.84 | – | – |
| | 3 | 71.73 | 0.27 | 8.58 | 0.07 | 1.41 | 0.35 |
| | 4 | 66.51 | 0.18 | 16.17 | 0.26 | 4.46 | 0.56 |
| | 5 | 57.70 | 0.47 | 15.71 | 0.14 | – | – |
| <i>semimembranosus</i> | 1 | 74.77 | 0.49 | 1.28 | 0.04 | 1.19 | 0.04 |
| | 2 | 69.28 | 1.45 | 18.26 | 0.38 | 5.61 | 0.76 |
| | 3 | 64.45 | 0.87 | 16.95 | 0.09 | 2.97 | 0.06 |
| | 4 | 58.61 | 0.09 | 14.55 | 0.25 | – | – |
| | 5 | 47.75 | 0.63 | 11.43 | 0.04 | 3.73 | 0.58 |
| Grasa asociada | 1 | 10.74 | 1.38 | 0.16 | 0.01 | 0.15 | 0.02 |
| | 2 | 15.63 | 3.60 | 1.36 | 0.04 | 1.41 | 0.08 |
| | 3 | 13.93 | 0.72 | 0.41 | 0.05 | 1.12 | 0.07 |
| | 4 | 6.55 | 1.60 | 0.60 | 0.06 | 1.45 | 0.01 |
| | 5 | 3.51 | 0.53 | 0.44 | 0.05 | – | – |

En el músculo *semimembranosus* de pernil el porcentaje medio de NaCl es de 1.28 %, y este valor aumenta considerablemente hasta 18.26 % en el pernil salado, este aumento más brusco se atribuye en esta etapa a la situación externa de este músculo y al contacto casi directo con las sales, separado solamente por el pequeño músculo *gracilis*. En el jamón tras postsalado la cantidad de NaCl es de 16.95 %. Esta disminución después de la etapa de postsalado puede ser debida a la migración de sal hacia los músculos más húmedos donde se facilita, debido a la mayor humedad, la disolución del NaCl. Según algunos autores la concentración de sales en los jamones varía a lo largo del proceso debido a la penetración de la sal desde los músculos más externos, hacia los internos más húmedos (Sárraga et al., 1989, Arnau et al., 1995).

Este hecho explicaría también los valores de NaCl encontrados en el músculo *semimembranosus* al final del proceso (14.55 % en jamón a mitad de la maduración y 11.43 en jamón curado) que continúan disminuyendo en este músculo mientras que, en sentido opuesto, en el músculo *biceps femoris* se produce el aumento más importante durante estas etapas.

El análisis de cloruros de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* (tabla IV.2) muestra que la cantidad de NaCl que penetra en el jamón a través de este tejido es relativamente baja si se compara con la difusión de sal a través del tejido muscular (principalmente a través de los músculos externos como el músculo *semimembranosus*). Se produce un incremento después de la etapa de salado (desde 0.16 % hasta 1.36 %) para estabilizarse posteriormente hasta el final del proceso hasta un valor de 0.44 % en jamón curado.

La evolución del contenido en cloruros lógicamente debería reflejarse en una evolución paralela en cenizas. No hay bibliografía disponible al respecto en otros tipos de jamón curado. Por este motivo pareció interesante abordar, a título orientativo, la pauta de evolución de este parámetro.

Los valores obtenidos en la determinación de cenizas de las muestras estudiadas en algunos puntos del proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel” se presentan en la tabla IV.2; se dan los datos correspondientes a los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, así como de la grasa asociada al músculo *biceps femoris*. Y en efecto, se observa un paralelismo entre la evolución de cenizas y del contenido en cloruros en los tres tipos de muestras en aquellos puntos del proceso donde hay datos disponibles.

IV.2. ESTUDIO DE LA FRACCIÓN PROTEICA. PROTEOLISIS

Uno de los principales cambios bioquímicos que tienen lugar durante el proceso de elaboración del jamón es la degradación de la fracción de proteínas. En este trabajo el estudio de la proteólisis que tiene lugar durante el proceso se lleva a cabo en primer lugar mediante el seguimiento de la evolución del nitrógeno total y del nitrógeno soluble en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, ya que son variables relacionados con el fenómeno proteolítico (Toldrá et al., 1992; Flores et al., 1984). Y en segundo lugar se lleva a cabo un estudio más fino por electroforesis SDS-PAGE de la evolución de las fracciones de proteínas totales, miofibrilares y sarcoplásmicas en ambos músculos, así como de la fracción de péptidos en estos mismos músculos en los distintos puntos del proceso. Se lleva a cabo también la medida de la actividad de diversas enzimas proteolíticas (catepsinas B + L, catepsina B, catepsina D, piroglutamilaminopeptidasa I y dipeptidilpeptidasa IV) como factor relevante que influye en la maduración de este producto y que influye en las características sensoriales del jamón curado “D.O. Teruel”.

IV.2.1. EVOLUCIÓN DEL NITRÓGENO TOTAL Y SOLUBLE

Se determina el nitrógeno total y el nitrógeno soluble en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* según los correspondientes protocolos descritos en el apartado III.2.4.2. El nitrógeno total (tabla IV.3) aumenta en el músculo *biceps femoris* desde 3.21 g N / 100 g muestra (b.h.) en pernil hasta 4.17 g N / 100 g muestra (b.h.) en jamón curado; en el músculo *semimembranosus* aumenta desde 3.35 g N / 100 g muestra (b.h.) en pernil hasta 5.87 g N / 100 g muestra (b.h.) en jamón curado. Se puede decir que el nitrógeno total se mantiene constante a lo largo del proceso, y sólo se produce un aumento en la etapa final de la maduración, que coincide con la disminución más brusca de la humedad en ambos músculos. Por tanto, se atribuye este aumento al cambio en la humedad más que a un aumento real del nitrógeno total, tal y como se ha comentado previamente en el análisis de proteínas (aptdo. IV.1.1).

Tabla IV.3. Porcentajes de nitrógeno total y de nitrógeno soluble (g / 100 g muestra (b.h.)) de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valor medio; S: desviación estándar).

| | | Nitrógeno total | | Nitrógeno soluble | | $\frac{N \text{ soluble} \times 100}{N \text{ total}}$ |
|-------------------------------|---|----------------------------------|-------|------------------------------------|-------|--|
| | | g N total / 100 g muestra (b.h.) | | g N soluble / 100 g muestra (b.h.) | | |
| Muestra | | X | S | X | S | |
| <i>biceps femoris</i> | 1 | 3.21 | 0.01 | 1.26 | 0.01 | 39.25 |
| | 2 | 3.38 | 0.06 | 1.26 | 0.01 | 37.27 |
| | 3 | 3.34 | 0.04 | 1.33 | 0.03 | 39.80 |
| | 4 | 3.39 | 0.06 | 1.41 | 0.001 | 41.59 |
| | 5 | 4.17 | 0.004 | 2.33 | 0.22 | 55.87 |
| <i>semimembranosus</i> | 1 | 3.35 | 0.03 | 1.31 | 0.01 | 39.10 |
| | 2 | 3.49 | 0.01 | 1.19 | 0.01 | 34.09 |
| | 3 | 3.72 | 0.06 | 1.52 | 0.09 | 40.86 |
| | 4 | 4.17 | 0.27 | 1.70 | 0.02 | 40.76 |
| | 5 | 5.87 | 0.46 | 2.21 | 0.01 | 37.65 |

En la tabla IV.3 se presentan los valores de nitrógeno soluble para los distintos puntos del proceso, en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, así como el porcentaje de éste con respecto al nitrógeno total. El nitrógeno soluble en ambos músculos al principio del proceso (pernil) representa aproximadamente el 39 % del nitrógeno total. En el músculo *biceps femoris* se produce un aumento de este porcentaje hasta 55.87 % en el jamón, y es en la etapa de maduración donde se produce el aumento más brusco del nitrógeno soluble (el 97 % del aumento total que se produce a lo largo del proceso), debido a los compuestos solubles que se van generando producto de la marcada proteólisis que tiene lugar durante esta etapa de maduración (Flores et al., 1984; Martín et al., 1998a; Antequera et al., 1994). Sin embargo, en el músculo *semimembranosus* se produce una disminución del

porcentaje de nitrógeno soluble con respecto al total durante la etapa de maduración, este hecho puede ser debido a que aunque se están generando compuestos solubles por proteólisis (aptdo. IV.2.2.3), también debe producirse pérdida de compuestos por difusión hacia los músculos internos más húmedos. Por otra parte los resultados de actividad enzimática (aptdo. IV.2.3) revelan que precisamente en la etapa de secado o maduración esta actividad es más intensa en el músculo *biceps femoris*, lo que ayudaría a explicar también el mayor porcentaje de nitrógeno soluble encontrado en este músculo. Los valores de nitrógeno soluble que se presentan en ambos músculos son del mismo orden que los obtenidos para jamón serrano, Ibérico y de Bayona por otros autores (Antequera et al., 1994; García-Garrido et al., 1999; Córdoba et al., 1994; Monin et al., 1997).

IV.2.2 PERFILES ELECTROFORÉTICOS DE LAS FRACCIONES PROTEICAS TOTAL, SARCOPLÁSMICA Y MIOFIBRILAR

El estudio por electroforesis SDS-PAGE de las fracciones de proteínas totales, sarcoplásmicas y miofibrilares de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* a lo largo del proceso, permite llevar a cabo un estudio más fino de las consecuencias de la proteólisis que tiene lugar durante el proceso de elaboración.

En este apartado se estudia cualitativa (SDS-PAGE) y semicuantitativamente (densitometría) la evolución de los componentes proteicos de las fracciones de proteínas totales, sarcoplásmicas y miofibrilares a lo largo del proceso. En las figuras IV.1 y IV.2 se presentan los electroforegramas obtenidos por SDS-PAGE para estas fracciones proteicas del pernil, pernil salado, jamón postsalado, jamón en maduración y del jamón curado "D.O. Teruel", de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, extraídas según el protocolo descrito en los apartados III.2.4.1.a, III.2.4.1.b y III.2.4.1.c, respectivamente. La tabla IV.4 muestra los resultados de la semicuantificación realizada a partir de los densitogramas obtenidos de los desarrollos electroforéticos de las diferentes fracciones proteicas (figuras VIII.1, VIII.2, VIII.3, VIII.4, VIII.5 y VIII.6 del Anexo I); la concentración se expresa en mg equivalentes de BSA / g proteína de cada fracción, en cada punto del proceso y para los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, respectivamente.

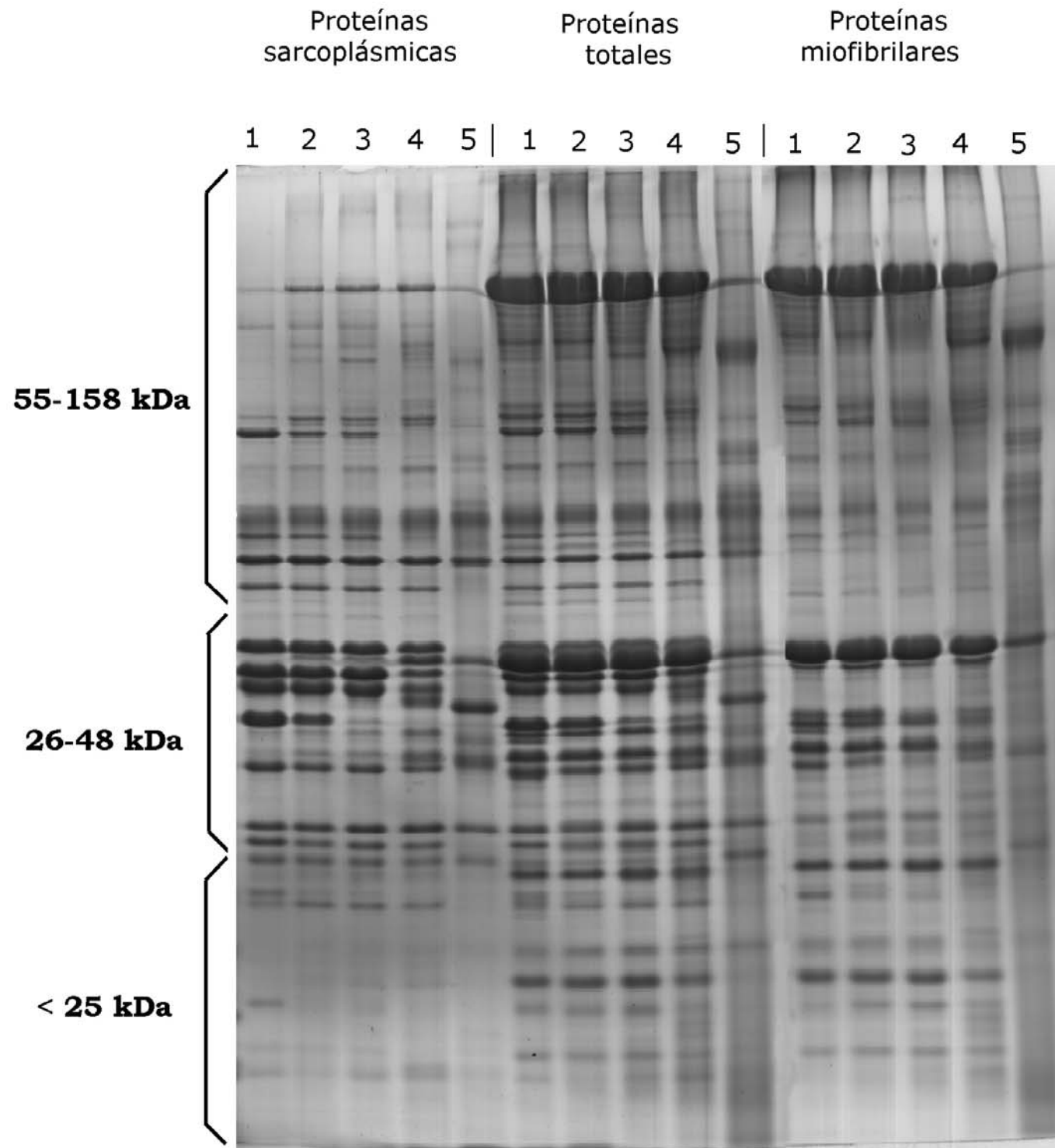


Figura IV.1. Electroforegrama obtenido por SDS-PAGE de la fracción de proteínas totales, sarcoplásmicas y miofibrilares del músculo *biceps femoris* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5).

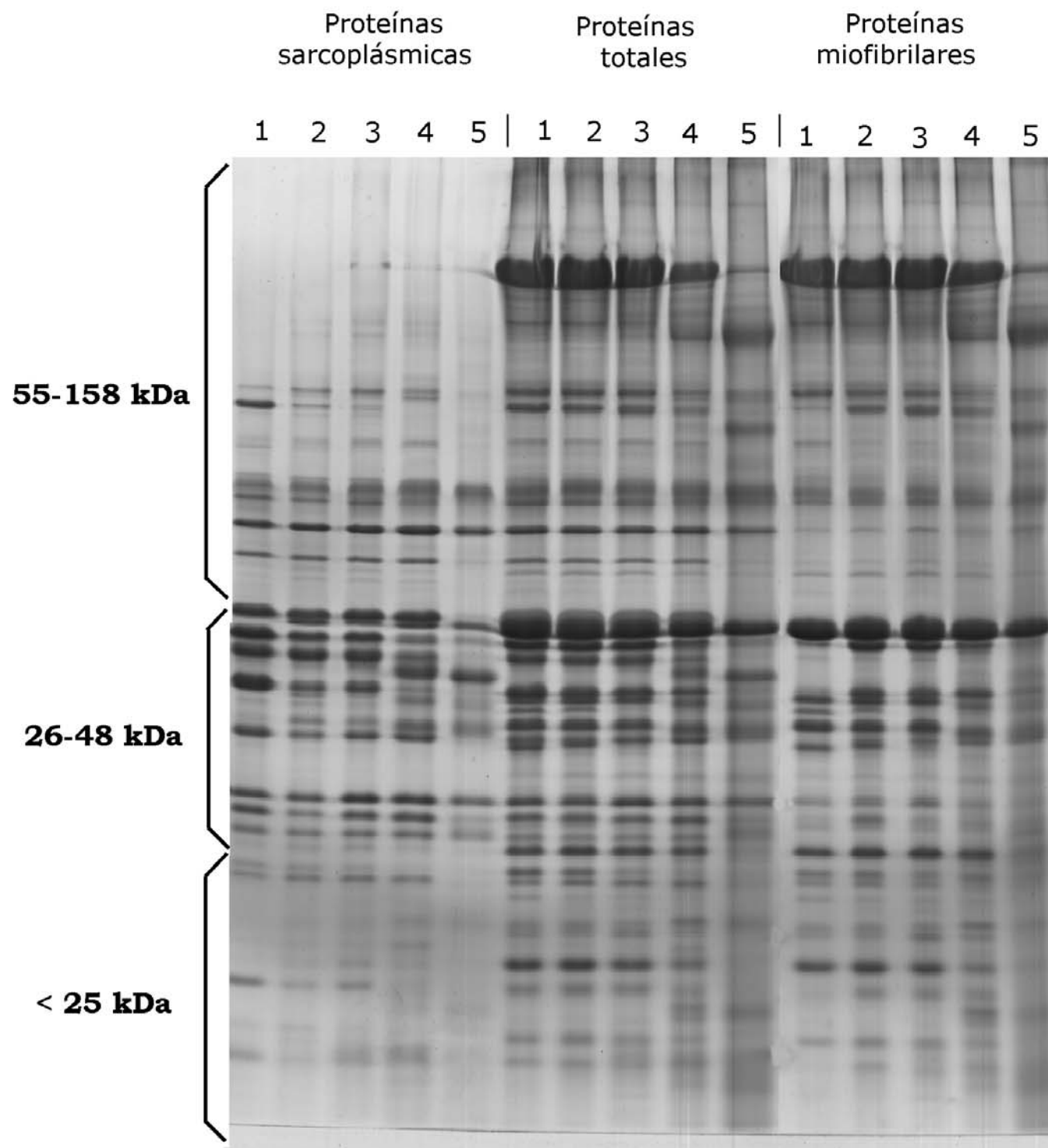


Figura IV.2. Electroforegrama obtenido por SDS-PAGE de la fracción de proteínas totales, sarcoplásmicas y miofibrilares del músculo *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5).

Tabla IV.4. Semicuantificación de la fracción de proteína total, sarcoplásmica y miofibrilar, realizada a partir de los correspondientes densitogramas, de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* durante el proceso de elaboración de jamón “D.O. Teruel”. Se estudian los intervalos de pesos moleculares de 55-158 kDa, 26-48 kDa y < 25 kDa. 1: pernil, 2: pernil salado, 3: jamón postsalado, 4: jamón en maduración y 5: jamón curado “D.O. Teruel” (resultados expresados como valores medios de mg equivalentes de BSA / g proteína).

| Músculo | Muestra | Fracción total | | | Fracción sarcoplásmica | | | Fracción miofibrilar | | |
|-------------------------------|---------|--|-----------|----------|--|------------|-----------|----------------------|--|------------|
| | | mg de equivalentes de BSA / g proteína | 26-48 kDa | < 25 kDa | mg de equivalentes de BSA / g proteína sarcoplásmica | 55-158 kDa | 26-48 kDa | < 25 kDa | mg de equivalentes de BSA / g proteína miofibrilar | 55-158 kDa |
| <i>biceps femoris</i> | 1 | 169.00 | 188.78 | 60.16 | 37.97 | 91.79 | 16.31 | 198.47 | 181.25 | 87.47 |
| | 2 | 178.97 | 207.29 | 68.78 | 41.30 | 80.63 | 14.56 | 201.04 | 174.95 | 91.93 |
| | 3 | 160.80 | 191.98 | 76.31 | 42.44 | 75.08 | 16.02 | 210.80 | 148.10 | 91.98 |
| | 4 | 155.37 | 174.30 | 71.28 | 38.06 | 61.78 | 14.60 | 187.98 | 117.75 | 86.42 |
| | 5 | 87.90 | 63.60 | 90.57 | 24.37 | 35.52 | 8.95 | 109.06 | 50.39 | 46.00 |
| <i>semimembranosus</i> | 1 | 155.40 | 176.44 | 60.06 | 41.69 | 112.71 | 25.61 | 142.40 | 114.44 | 50.82 |
| | 2 | 180.22 | 193.99 | 65.91 | 39.16 | 80.14 | 23.64 | 144.51 | 146.95 | 74.32 |
| | 3 | 152.57 | 177.79 | 57.78 | 45.46 | 86.08 | 24.88 | 142.51 | 120.54 | 64.29 |
| | 4 | 151.69 | 182.63 | 64.58 | 40.03 | 83.92 | 26.75 | 163.96 | 108.52 | 74.45 |
| | 5 | 101.07 | 104.61 | 58.82 | 25.77 | 57.29 | 21.31 | 136.52 | 102.49 | 52.77 |

Se lleva a cabo un estudio preliminar más grosero sobre la evolución de las proteínas totales, sarcoplásmicas y miofibrilares a lo largo del proceso; para ello se dividen los desarrollos electroforéticos (figuras IV.1 y IV.2) en tres intervalos comprendidos entre 55-100 kDa, 26-48 kDa y < 25 kDa, respectivamente. Este criterio ya ha sido utilizado por otros autores (Toldrá et al., 1993) para facilitar el estudio de la evolución de los diferentes componentes proteicos a lo largo del proceso de elaboración de jamones curados, de forma que se obtiene una primera visión general de lo que ocurre en el proceso a distintos intervalos de pesos moleculares. Por densitometría se cuantifican las proteínas pertenecientes a cada uno de los tres intervalos en cada punto del proceso y para cada músculo, respectivamente (tabla IV.4 y figuras VIII.1 y VIII.8 del Anexo I).

Del estudio de las proteínas sarcoplásmicas por intervalos de pesos moleculares (tabla IV.4 y Fig. IV.3) se deduce que en el músculo *semimembranosus* la etapa de salado es especialmente crítica, ya que en esta etapa se observa una disminución importante, especialmente en las proteínas de 26-48 kDa, lo que se atribuye, por un lado, al efecto insolubilizador de la sal, y por otro lado, al drenaje que se produce durante la etapa de salado; este hecho no se aprecia en el músculo *biceps femoris* donde la sal penetra más lentamente durante las etapas de postsalado y maduración (aptdo. IV.1.2, tabla IV.2) y donde el drenaje es siempre menor. En ambos músculos la disminución de las proteínas sarcoplásmicas en todos los intervalos estudiados es más importante durante la etapa de la maduración, tal y como se observa en la tabla IV.4.

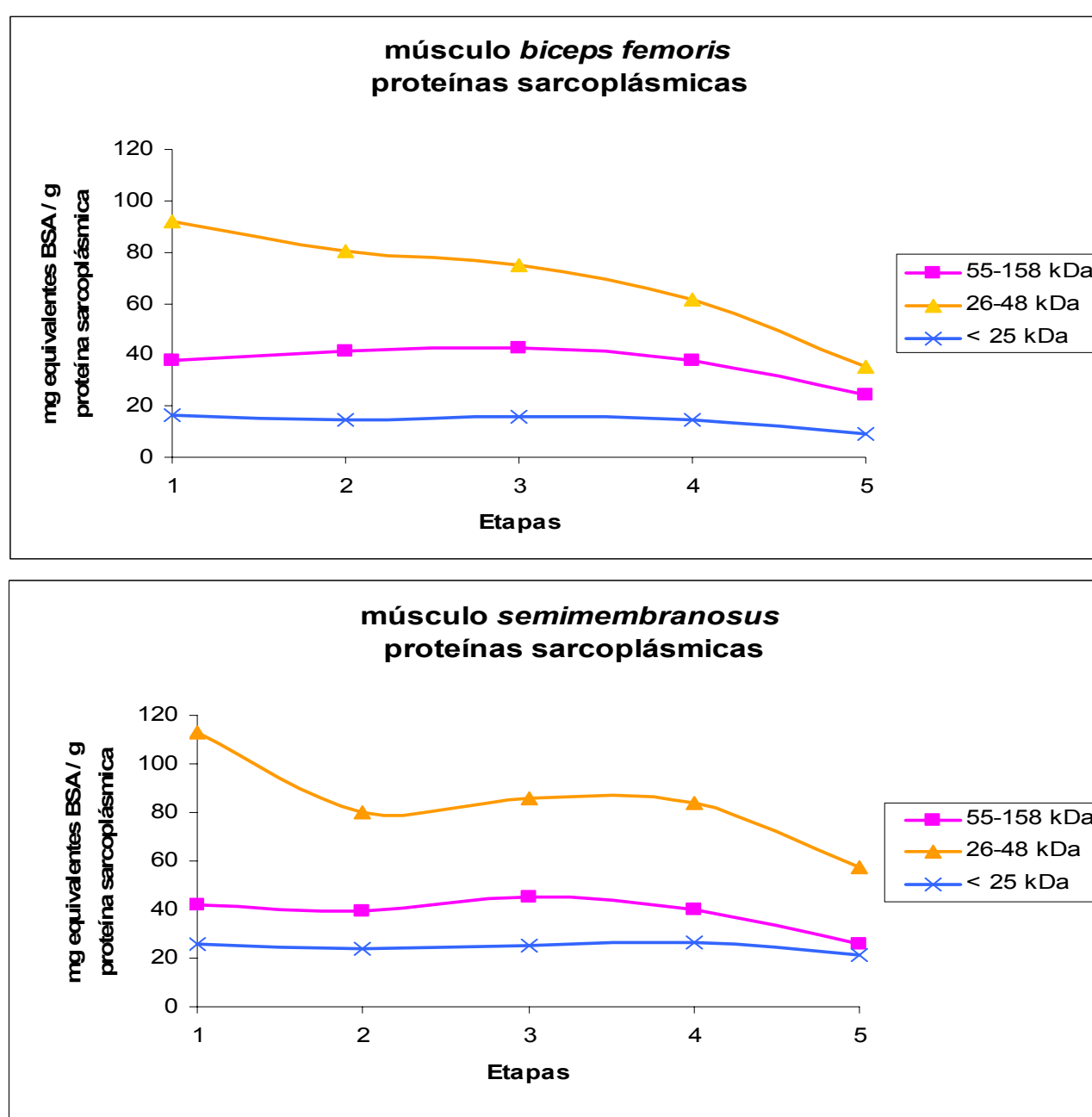


Figura IV.3. Evolución de los valores de mg equivalentes de BSA / g proteína sarcoplásmica de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5) para los intervalos de pesos moleculares de 55-158 kDa, 26-48 kDa y < 25 kDa.

Del estudio de las proteínas miofibrilares por intervalos de pesos moleculares (tabla IV.4 y Fig. IV.4) hay que destacar un aumento importante en la etapa de salado para las proteínas miofibrilares del músculo *semimembranosus*, especialmente en el intervalo 26-48 kDa, que podría justificarse por la insolubilización de proteínas sarcoplásmicas en esta etapa, tal y como se acaba de comentar. Por otra parte, si se comparan los valores obtenidos para el músculo *semimembranosus* con los del músculo *biceps femoris* (Fig. IV.4), se observa que en la etapa de maduración la disminución en el contenido de proteínas, en cualquiera de los intervalos de pesos moleculares estudiados, es más brusca en el músculo *biceps femoris*. Este hecho podría estar relacionado con una mayor actividad enzimática que permanece en este músculo en mayor grado hasta el final del proceso, según se estudia en este trabajo en apartados posteriores (aptdo. IV. 2.3).

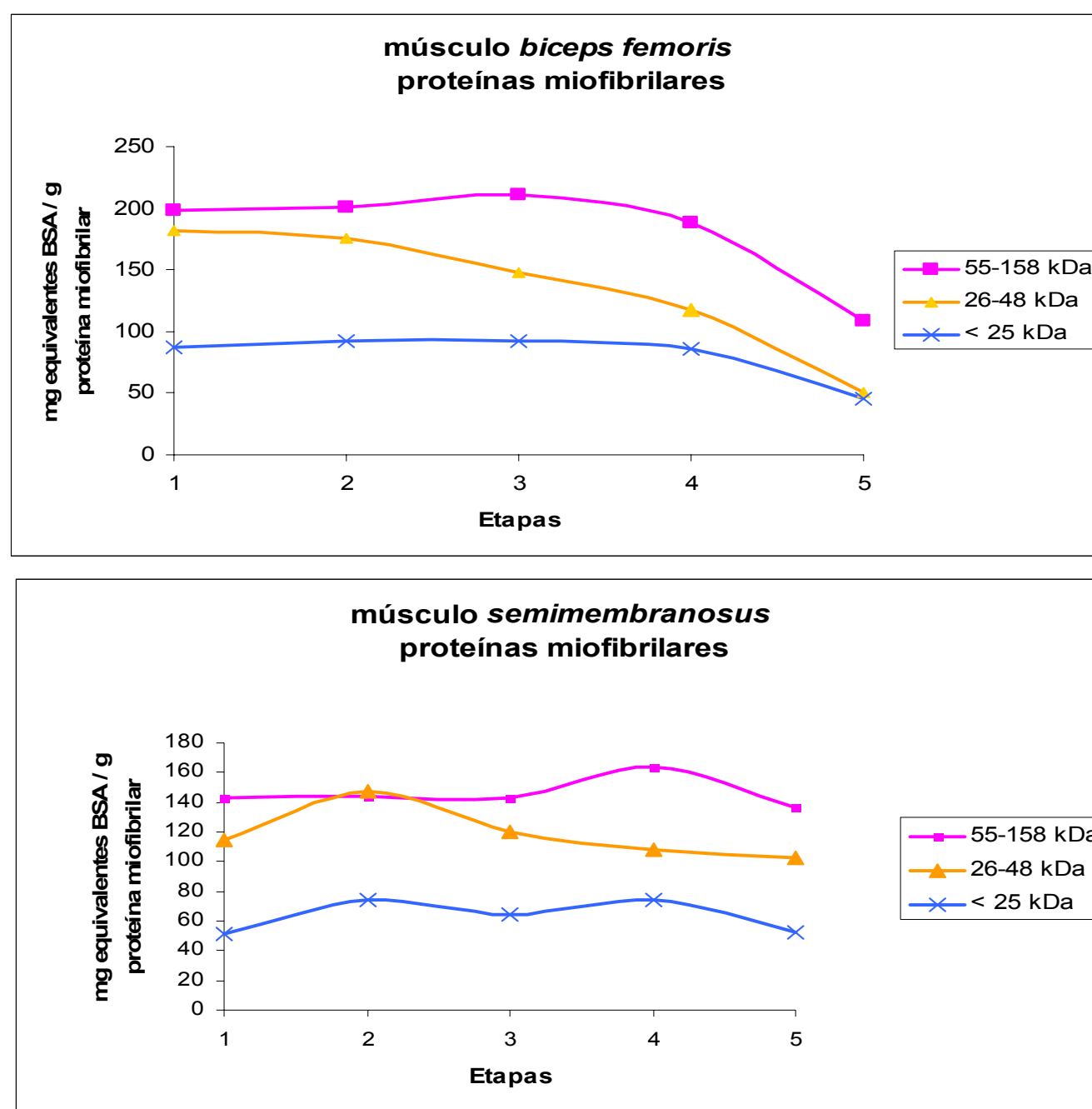


Figura IV.4. Evolución de los valores de mg equivalentes de BSA / g proteína miofibrilar de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5) para los intervalos de pesos moleculares de 55-158 kDa, 26-48 kDa y < 25 kDa.

Del estudio de las proteínas totales por intervalos de pesos moleculares para los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* (tabla IV.4) se observa que los resultados son similares a los obtenidos para las proteínas miofibrilares, lo que indica, como es sabido, que la fracción de proteínas miofibrilares es mayoritaria, y los cambios que tienen lugar en esta fracción deben ser equivalentes a los estudiados en la fracción de proteínas totales. Destacar que tanto en la fracción de proteínas miofibrilares como en la total al final del proceso se observan unos desarrollos electroforéticos bastante continuos en los que no se distinguen claramente las diferentes bandas de proteínas que se identificaban hasta la mitad de la maduración. Este hecho puede ser debido a la generación de numerosos

compuestos de proteólisis que abarcan todo el intervalo de pesos moleculares estudiado. Este hecho revela que la proteólisis debe ser más intensa al final del proceso y que especialmente afecta a las proteínas miofibrilares (Fig. IV.2).

En los siguientes apartados se estudia con mayor profundidad la evolución de las proteínas más relevantes de las fracciones sarcoplásmica y miofibrilar, de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* a lo largo del proceso de elaboración.

IV.2.2.1. La fracción de proteínas sarcoplásmicas

En los estudios sobre proteólisis en carne y productos cárnicos, la fracción de proteínas sarcoplásmicas o fracción de proteínas solubles en tampones de baja fuerza iónica se identifica con la fracción de nitrógeno soluble que en este trabajo se ha cuantificado en el apartado IV.2.1. En este apartado se estudia cualitativa (SDS-PAGE) y semicuantitativamente (densitometría) cómo evolucionan los componentes proteicos de esta fracción sarcoplásmica a lo largo del proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”. En la figura IV.5 se presenta el electroforegrama obtenido por SDS-PAGE para las proteínas sarcoplásmicas de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del pernil, pernil salado, jamón postsalado, jamón en maduración y jamón curado “D.O. Teruel”, extraídas según el protocolo descrito en el apartado III.2.4.1.b. En las figuras VIII.3 y VIII.4 del Anexo I se presentan los densitogramas obtenidos a partir de los correspondientes desarrollos electroforéticos de la figura IV.5. Las tablas IV.5. y IV.6. muestran los resultados de la semicuantificación realizada a partir de los distintos densitogramas, donde se expresa el contenido en mg equivalentes de BSA / g proteína sarcoplásmica, de las proteínas más relevantes de esta fracción en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, respectivamente.

En la figura IV.5 se señalan las proteínas de las cuales se realiza una semicuantificación por densitometría, cuyos resultados se presentan en la tabla IV.5. La seroalbúmina bovina (BSA) se utiliza como patrón interno y la concentración de esta proteína en todas las muestras es de 10 mg / g proteína sarcoplásmica.

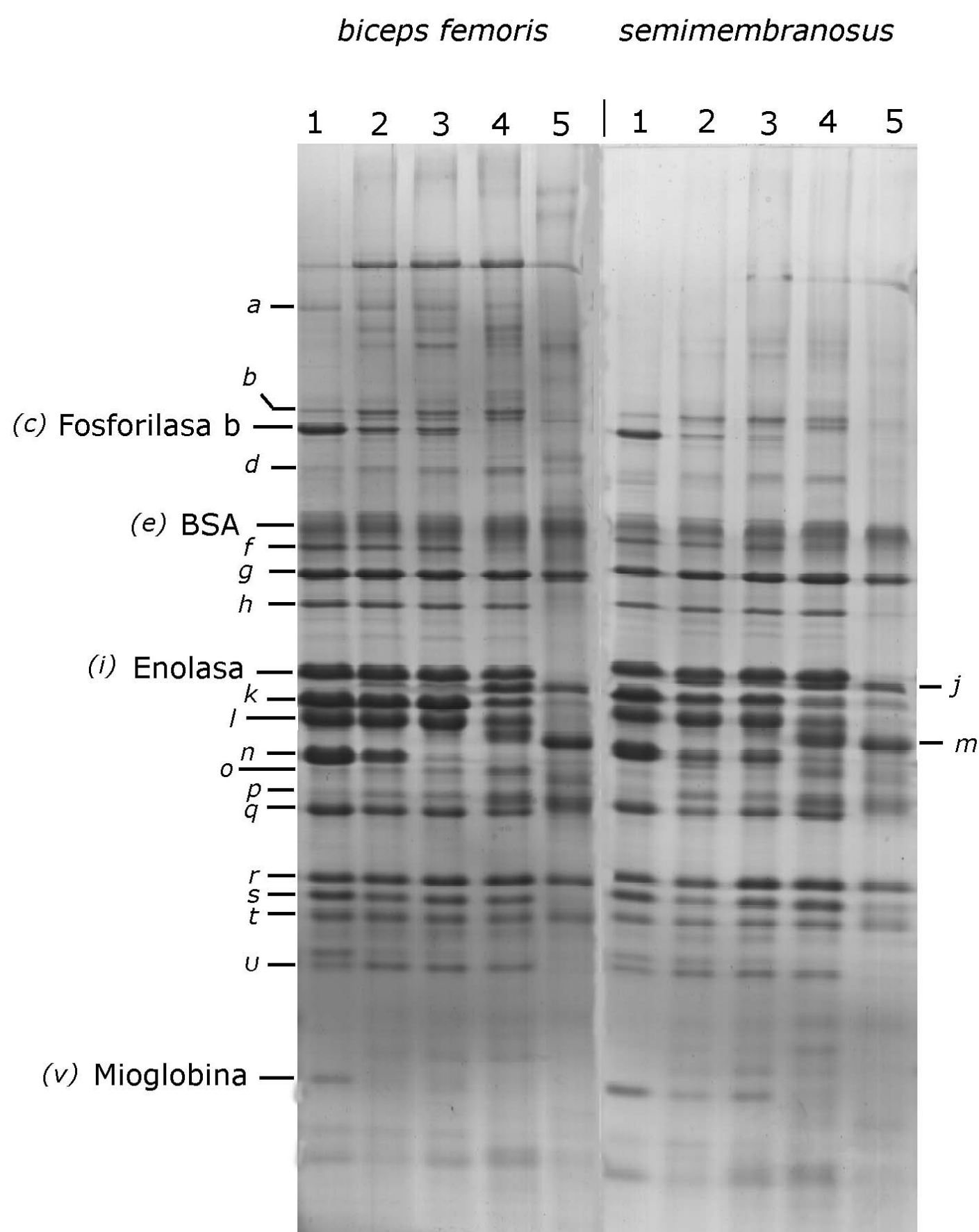


Figura IV.5. Electroforegrama obtenido por SDS-PAGE de las proteínas sarcoplásmicas de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). Los pesos moleculares de las bandas estudiadas son: a:127.7 kDa, b:97.3 kDa, c: 93.2 kDa, d: 82.4 kDa, e: 70.8 kDa, f: 67.3 kDa, g: 63.3 kDa, h: 57 kDa, i: 46.4 kDa, j: 45.6 kDa, k: 44.3 kDa, l: 41.6 kDa, m: 39.7 kDa, n: 37.6 kDa, o: 36 kDa, p: 35.4 kDa, q: 33.6 kDa, r: 29.2 kDa, s: 28 kDa, t: 27.5 kDa, u: 21.3 kDa, v: 17 kDa.

Tabla IV.5. Semicuantificación de la fracción de proteínas sarcoplásmicas, realizada a partir de los correspondientes densitogramas, del músculo *biceps femoris* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valor medio en mg equivalentes de BSA /g proteína sarcoplásmica, S: desviación estándar).

| Proteínas sarcoplásmicas | biceps femoris | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|----------------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|
| | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | | | | | | |
| | X | S | X | S | X | S | X | S | X | S | | | | | | |
| Muestras | | | | | | | | | | | | | | | | |
| a- Proteínas 127.7 kDa | 1.19 | 0.08 | 1.01 | 0.03 | 1.56 | 0.33 | 1.32 | 0.09 | 0.14 | 0.09 | 1.56 | 0.33 | 1.32 | 0.09 | 0.14 | 0.09 |
| b- Proteínas 97.3 kDa | 1.24 | 0.18 | 3.98 | 0.68 | 3.70 | 1.27 | 4.50 | 0.28 | 0.99 | 0.49 | 3.70 | 1.27 | 4.50 | 0.28 | 0.99 | 0.49 |
| c- Fosforilasa b (93.2 kDa) | 7.84 | 1.51 | 4.13 | 0.46 | 4.33 | 1.46 | 1.20 | 0.60 | 0.25 | 0.24 | 4.33 | 1.46 | 1.20 | 0.60 | 0.25 | 0.24 |
| d- Fosfofructoquinasa (82.4 kDa) | 0.62 | 0.01 | 1.10 | 0.11 | 1.18 | 0.14 | 2.04 | 0.33 | 0.65 | 0.17 | 1.18 | 0.14 | 2.04 | 0.33 | 0.65 | 0.17 |
| e- BSA (70.8 kDa) | 10.00 | 0.00 | 10.00 | 0.00 | 10.00 | 0.00 | 10.00 | 0.00 | 10.00 | 0.00 | 10.00 | 0.00 | 10.00 | 0.00 | 10.00 | 0.00 |
| f- Proteínas 67.3 kDa | 9.33 | 1.18 | 6.02 | 1.04 | 6.41 | 0.98 | 4.83 | 0.76 | 1.67 | 0.43 | 6.41 | 0.98 | 4.83 | 0.76 | 1.67 | 0.43 |
| g- Piruvato quinasa (63.3 kDa) | 9.64 | 1.23 | 9.48 | 1.28 | 8.81 | 1.75 | 7.84 | 1.72 | 7.41 | 0.29 | 8.81 | 1.75 | 7.84 | 1.72 | 7.41 | 0.29 |
| h- Fosfoglucosa isomerasa (57 kDa) | 4.17 | 0.57 | 3.98 | 0.34 | 3.43 | 0.35 | 2.64 | 0.05 | 0.41 | 0.10 | 3.43 | 0.35 | 2.64 | 0.05 | 0.41 | 0.10 |
| i- Enolasa (46.4 kDa) | 13.93 | 2.68 | 13.94 | 2.05 | 12.73 | 3.08 | 8.81 | 1.67 | 0.28 | 0.10 | 12.73 | 3.08 | 8.81 | 1.67 | 0.28 | 0.10 |
| j- Proteínas 45.6 kDa | 0.80 | 0.73 | 2.67 | 1.07 | 2.91 | 0.53 | 7.92 | 1.51 | 4.87 | 0.66 | 2.91 | 0.53 | 7.92 | 1.51 | 4.87 | 0.66 |
| k- Fosfato creatin kinasa (44.3 kDa) | 16.60 | 3.25 | 14.46 | 2.41 | 15.95 | 3.99 | 6.47 | 1.38 | 1.68 | 0.40 | 15.95 | 3.99 | 6.47 | 1.38 | 1.68 | 0.40 |
| l- Aldolasa (41.6 kDa) | 16.32 | 4.41 | 15.99 | 3.12 | 14.53 | 3.43 | 8.64 | 1.83 | 1.58 | 0.73 | 14.53 | 3.43 | 8.64 | 1.83 | 1.58 | 0.73 |
| m- Proteínas 39.7 kDa | 0.93 | 1.01 | 1.05 | 0.36 | 2.25 | 0.31 | 7.23 | 1.38 | 9.08 | 0.41 | 2.25 | 0.31 | 7.23 | 1.38 | 9.08 | 0.41 |
| n- Gliceraldehido fosfato DH (37.6 kDa) | 16.32 | 4.35 | 9.57 | 2.01 | 1.31 | 0.19 | 0.60 | 0.17 | 0.34 | 0.10 | 1.31 | 0.19 | 0.60 | 0.17 | 0.34 | 0.10 |
| o- Proteínas 36 kDa | 1.27 | 0.12 | 1.96 | 0.89 | 2.65 | 0.79 | 5.78 | 1.21 | 3.37 | 0.35 | 2.65 | 0.79 | 5.78 | 1.21 | 3.37 | 0.35 |
| p- Proteínas 35.4 kDa | 1.04 | 0.21 | 1.94 | 0.30 | 2.27 | 0.51 | 5.19 | 0.35 | 5.74 | 0.22 | 2.27 | 0.51 | 5.19 | 0.35 | 5.74 | 0.22 |
| q- Proteínas 33.6 kDa | 9.25 | 2.10 | 6.45 | 0.82 | 6.34 | 0.96 | 3.95 | 0.26 | 2.53 | 0.46 | 6.34 | 0.96 | 3.95 | 0.26 | 2.53 | 0.46 |
| r- Fosfoglicerato mutasa (29.2 kDa) | 6.32 | 1.47 | 6.06 | 0.96 | 7.03 | 1.07 | 5.97 | 0.89 | 4.70 | 0.41 | 7.03 | 1.07 | 5.97 | 0.89 | 4.70 | 0.41 |
| s- Triosa fosfato isomerasa (28 kDa) | 5.62 | 1.28 | 3.79 | 0.43 | 4.57 | 0.55 | 3.02 | 0.29 | 1.14 | 0.41 | 4.57 | 0.55 | 3.02 | 0.29 | 1.14 | 0.41 |
| t- Proteínas 27.5 kDa | 4.03 | 0.90 | 3.75 | 0.34 | 3.95 | 0.24 | 3.03 | 0.43 | 2.67 | 0.25 | 3.95 | 0.24 | 3.03 | 0.43 | 2.67 | 0.25 |
| u- Proteínas 21.3 kDa | 1.41 | 0.70 | 2.60 | 1.05 | 2.43 | 0.89 | 1.67 | 0.27 | 0.71 | 0.53 | 2.43 | 0.89 | 1.67 | 0.27 | 0.71 | 0.53 |
| v- Mioglobina (17 kDa) | 3.30 | 1.74 | 2.28 | 0.53 | 1.97 | 0.73 | 1.83 | 0.40 | 1.67 | 0.18 | 1.97 | 0.73 | 1.83 | 0.40 | 1.67 | 0.18 |

Tabla IV.6. Semicuantificación de la fracción de proteínas sarcoplásmicas, realizada a partir de los correspondientes densitogramas, del músculo *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valor medio en mg equivalentes de BSA /g proteína sarcoplásmica, S: desviación estándar).

| Proteínas sarcoplásmicas | | semimembranosus | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------------------|-----------------|------|-------|------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| | | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | |
| Muestras | | X | S | X | S | X | S | X | S | X | S |
| a- | Proteínas 127.7 kDa | 1.71 | 0.38 | 3.18 | 1.66 | 5.75 | 1.64 | 4.24 | 0.88 | 2.87 | 1.25 |
| b- | Proteínas 97.3 kDa | 2.33 | 0.02 | 4.47 | 1.06 | 6.29 | 0.30 | 3.82 | 0.30 | 1.18 | 0.02 |
| c- | Fosforilasa b (93.2 kDa) | 9.62 | 1.31 | 2.70 | 0.20 | 2.44 | 0.08 | 1.53 | 1.50 | 0.25 | 0.05 |
| d- | Fosfofructoquinasa (82.4 kDa) | 1.06 | 0.07 | 1.84 | 0.21 | 2.45 | 0.21 | 2.15 | 0.10 | 0.51 | 0.002 |
| e- | BSA (70.8 kDa) | 10.00 | 0.00 | 10.00 | 0.00 | 10.00 | 0.00 | 10.00 | 0.00 | 10.00 | 0.00 |
| f- | Proteínas 67.3 kDa | 9.91 | 1.21 | 4.79 | 0.85 | 8.24 | 0.46 | 6.63 | 0.79 | 1.84 | 0.05 |
| g- | Piruvato quinasa (63.3 kDa) | 10.55 | 1.28 | 10.29 | 2.54 | 10.24 | 0.79 | 10.91 | 0.40 | 8.41 | 0.07 |
| h- | Fosfoglucoasa isomerasa (57 kDa) | 4.80 | 0.62 | 4.20 | 1.21 | 3.76 | 0.21 | 3.92 | 0.08 | 1.01 | 0.06 |
| i- | Enolasa (46.4 kDa) | 13.49 | 2.14 | 11.05 | 2.32 | 11.15 | 0.39 | 11.62 | 0.00 | 2.72 | 0.74 |
| j- | Proteínas 45.6 kDa | 1.95 | 0.05 | 5.70 | 0.36 | 4.42 | 0.19 | 5.85 | 0.16 | 5.23 | 0.21 |
| k- | Fosfato creatin kinasa (44.3 kDa) | 19.11 | 4.59 | 10.83 | 2.38 | 11.01 | 0.37 | 5.69 | 0.55 | 3.79 | 0.32 |
| l- | Aldolasa (41.6 kDa) | 18.03 | 3.88 | 15.35 | 3.65 | 15.89 | 2.12 | 7.36 | 0.03 | 1.90 | 0.61 |
| m- | Proteínas 39.7 kDa | 0.78 | 0.81 | 1.51 | 1.97 | 0.89 | 0.75 | 12.17 | 1.11 | 15.74 | 0.05 |
| n- | Gliceraldehido fosfato DH (37.6 kDa) | 22.70 | 4.08 | 10.37 | 2.14 | 10.61 | 1.19 | 6.95 | 0.87 | 5.88 | 0.64 |
| o- | Proteínas 36 kDa | 0.99 | 0.09 | 1.00 | 0.12 | 0.70 | 0.06 | 3.84 | 0.87 | 1.65 | 0.47 |
| p- | Proteínas 35.4 kDa | 0.97 | 0.12 | 3.51 | 0.41 | 2.66 | 0.004 | 6.25 | 0.89 | 7.37 | 2.43 |
| q- | Proteínas 33.6 kDa | 12.03 | 0.19 | 5.63 | 0.44 | 7.35 | 0.19 | 6.04 | 0.22 | 1.68 | 0.51 |
| r- | Fosfoglicerato mutasa (29.2 kDa) | 9.02 | 1.47 | 7.88 | 1.15 | 10.76 | 0.08 | 9.69 | 0.68 | 6.51 | 0.11 |
| s- | Triosa fosfato isomerasa (28 kDa) | 8.76 | 0.73 | 4.05 | 0.19 | 6.86 | 0.63 | 7.35 | 0.45 | 2.08 | 0.04 |
| t- | Proteínas 27.5 kDa | 5.58 | 0.17 | 3.79 | 0.21 | 4.13 | 0.72 | 4.68 | 0.10 | 4.24 | 0.02 |
| u- | Proteínas 21.3 kDa | 2.99 | 1.33 | 3.82 | 1.10 | 3.88 | 0.45 | 3.20 | 1.28 | 0.82 | 0.46 |
| v- | Mioglobina (17 kDa) | 5.65 | 0.36 | 3.06 | 0.16 | 3.38 | 0.79 | 2.02 | 0.71 | 1.28 | 0.48 |

Si se observa la evolución de las distintas proteínas sarcoplasmáticas estudiadas en músculo *biceps femoris* a lo largo del proceso con respecto al pernil, el primer efecto importante que se produce es ya en la etapa de salado. Se destaca el efecto que el salado tiene sobre la fosforilasa b (93.2 kDa) y la mioglobina (17 kDa), cuya concentración disminuye en esta etapa un 47 % y un 31 % respectivamente (tabla IV.5). Este efecto se observa en otras proteínas como la gliceraldehído fosfato deshidrogenasa (37.6 kDa) que sufre una disminución de 41 % en el salado. En el caso concreto de la mioglobina, algunos autores atribuyen el efecto del salado a la reacción con el óxido nítrico que proviene de las sales de curado, que la haría insoluble en tampones acuosos (Córdoba et al., 1994). Tal y como se indicó en el análisis de cloruros, el agente salino ya está presente en el músculo *biceps femoris* en una concentración de 5 % (b.s.) después de la etapa de salado.

Pero el cambio más importante en el perfil de proteínas sarcoplásmicas del músculo *biceps femoris* ocurre durante la maduración, donde se observa una disminución más drástica de la mayoría de estas proteínas estudiadas. Así, ya en la primera mitad de la maduración casi desaparece la proteína de 67.3 kDa y disminuye de forma importante la fosfato creatin quinasa (44.3 kDa) y la aldolasa (41.6 kDa). En la última mitad de la maduración hasta llegar al jamón curado, se observa el efecto más importante en la degradación de esta fracción y alcanzan valores mínimos algunas proteínas como la de 97.3 kDa, la fosfofructoquinasa (82.4 kDa), la fosfoglucosa isomerasa (57 kDa), la de 33.6 kDa, la triosa fosfato isomerasa (28 kDa), y las proteínas de 21.3 kDa (Fig. IV.7 y tabla IV.5).

En general la disminución de las distintas proteínas sarcoplásmicas en el músculo *biceps femoris* se puede atribuir principalmente a la importante actividad proteolítica que tiene lugar en este músculo durante el proceso, especialmente en la etapa de maduración, tal y como se estudia en el apartado IV.2.3.

Además a lo largo del proceso se observa también la intensificación en la fracción de proteínas sarcoplasmáticas del músculo *biceps femoris* de algunas proteínas (45.6 kDa, 39.7 kDa, 36 kDa) que probablemente procedan de la hidrólisis de proteínas miofibrilares (Toldrá et al., 1993; Córdoba et al., 1994). Estas proteínas aumentan su concentración progresivamente (tabla IV.5) durante el proceso y alcanzan un máximo en la primera mitad de la maduración (45.6 kDa y 36 kDa), o en la segunda mitad de la maduración, al final del proceso (39.7 kDa). Este resultado podría relacionarse con la degradación de proteínas de la fracción miofibrilar (aptdo. IV.2.2.2) que incrementaría la fracción de proteínas solubles progresivamente a lo largo del proceso.

Si se observan los desarrollos electroforéticos de las proteínas sarcoplásmicas de las distintas etapas del proceso para el músculo *semimembranosus* (Fig. IV.5) los cambios detectados son similares a los mencionados par el músculo *biceps femoris*, aunque se aprecian variaciones más pronunciados en la etapa de salado; en concreto se destaca el efecto del salado sobre la fosforilasa b (93.2 kDa), cuya concentración disminuye un 72 %, (respecto del pernil) frente a un 47 % en el músculo *biceps femoris*, y la mioglobina (17 kDa) que disminuye un 45 % frente a un 31 % en el músculo *biceps femoris* (tablas IV.5 y IV.6). La fosfato creatin quinasa (44.3 kDa), en *biceps femoris* disminuye un 12 % después del salado, en el músculo *semimembranosus* disminuye un 43 %. Estos resultados reflejan el mayor efecto de la sal en este músculo.

Estas diferencias entre músculos y los resultados que se aprecian son coherentes con los obtenidos en el apartado IV.2.1, en el que se comprueba que la cantidad de N-soluble extraída del músculo *semimembranosus* después del salado es menor que en el *biceps femoris* (tabla VI.3); como se ha comentado, el efecto de insolubilización y desnaturalización provocado por la sal es más importante en este músculo más externo, que permanece en contacto casi directo con el agente salino, (donde el pequeño y superficial músculo *gracilis* se hace imperceptible) que en el músculo *biceps femoris*, músculo interno protegido externamente por una gruesa capa de piel y grasa.

IV.2.2.2. La fracción de proteínas miofibrilares

La degradación de las proteínas miofibrilares, componentes mayoritarios y principales responsables de la textura del tejido muscular, es un factor decisivo en la tenderización postmortem, así como en las características sensoriales finales de los productos curados. En la figura IV.6 se presenta el electroforegrama obtenido por SDS-PAGE para las proteínas miofibrilares de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del pernil, pernil salado, jamón postsalado, jamón en maduración y del jamón curado “D.O. Teruel”, extraídas según el protocolo descrito en el apartado III.2.4.1.c. En las figuras VIII.5 y VIII.6 del Anexo I se presentan los densitogramas obtenidos a partir de los correspondientes desarrollos electroforéticos que se han mostrado en la figura IV.6. Las tablas IV.7 y IV.8 muestran los valores de la semicuantificación obtenidos a partir de los distintos densitogramas, donde se expresa la concentración en mg equivalentes de BSA / g proteína miofibrilar, de las proteínas más relevantes de esta fracción, en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* respectivamente.

En la figura IV.6 se señalan las proteínas de las cuales se realiza una semicuantificación por densitometría, cuyos resultados se presentan en las tablas IV.7 y IV.8. La seroalbúmina bovina (BSA) se utiliza como patrón interno y la concentración de esta proteína en todas las muestras es de 14.29 mg / g proteína miofibrilar.

Los desarrollos electroforéticos de las proteínas miofibrilares para el músculo *biceps femoris* (Fig. IV.6) en las distintas etapas del proceso, muestran que la mayoría de proteínas se ven afectadas especialmente al final de la maduración. La cadena pesada de la miosina (140 kDa) presenta un alto contenido hasta después del postsalado, disminuyendo un 30 % durante la primera mitad de la maduración, mientras que al final de la maduración llega casi a desaparecer, disminuyendo desde 53.19 hasta 4.87 mg equivalentes de BSA / g proteína miofibrilar, lo que representa un 91 % de la disminución total de esta proteína (tabla IV.7). Esto está de acuerdo con los resultados obtenidos por Toldrá & Aristoy (1993) y Tabilo et al., (1999), que muestran la hidrólisis de la cadena pesada de la miosina junto con la

aparición de numerosos fragmentos en el intervalo de 50-10 kDa en el jamón curado con respecto a la materia prima utilizada en su elaboración.

La actina (46.4 kDa) del músculo *biceps femoris* se mantiene bastante hasta después del postsalado; en la primera mitad de la maduración disminuye un 23 % con respecto al postsalado, y al final de la maduración disminuye desde 44.18 hasta 18.34 mg equivalentes de BSA / g proteína miofibrilar (tabla IV.7), lo que supone un 58 % de la disminución total que sufre esta proteína durante la maduración.

Otras proteínas miofibrilares del músculo *biceps femoris* que también disminuyen su contenido durante el proceso, son las cadenas ligeras de la miosina LC1 (24.7 kDa) y LC2 (18 kDa) (Fig. IV.6 y tabla IV.7). La miosina LC1 disminuye un 46 % desde la primera mitad de la maduración hasta el final del proceso; sin embargo la miosina LC2 disminuye en la primera mitad de la maduración un 52 % y en la segunda mitad un 88 %.

También hay que destacar la degradación que sufren la α -actinina (97.3 kDa), la β -tropomiosina (35.2 kDa) y la troponina I (23.2 kDa) en el músculo *biceps femoris*, especialmente en la etapa final de la maduración (Fig. IV.6 y tabla IV.7). La α -actinina disminuye durante la maduración desde 18.21 hasta 7.79 mg equivalentes de BSA / g proteína miofibrilar (tabla IV.7), mientras que el efecto sobre la β -tropomiosina resulta ser todavía más importante en esta etapa, ya que disminuye desde 24.34 al final del postsalado hasta 1.1 mg equivalentes de BSA / g proteína miofibrilar en jamón curado "D.O. Teruel". Estos resultados están de acuerdo con los encontrados por otros autores (Tabilo et al., 1999), que observan que la α -actinina llega casi a desaparecer al final del proceso.

Así pues, se puede decir que en el músculo *biceps femoris* las proteínas de la fracción miofibrilar disminuyen, y algunas de forma más drástica como la β -tropomiosina (35.2 kDa); y este efecto es más importante en la última etapa de maduración. Estos resultados coinciden con los encontrados por otros autores (Toldrá et al., 1993). Este hecho se atribuye a la intensa proteólisis que tiene lugar

en esta última etapa de maduración; según algunos autores (Yates et al., 1983) la catepsinas B, D, H, y L permanecen activas incluso después de ocho meses en el proceso del curado. Además los resultados de actividad enzimática llevados a cabo en este trabajo (aptdo. IV.2.3) son concordantes también con estos resultados. De todo ello se deduce también que en la última etapa de la maduración, es decir, los 4 últimos meses del proceso, es donde resulta determinante la degradación de las principales proteínas estructurales de la carne, y por tanto donde se deciden las propiedades texturales finales del jamón curado “D.O. Teruel”.

Es también importante destacar que algunas proteínas se suman a la fracción de proteínas miofibrilares del músculo *biceps femoris* en diferentes etapas del proceso. Es el caso de la mioglobina (17 kDa) que aparece en esta fracción después del salado, coincidiendo con su desaparición en la fracción de proteínas sarcoplásmicas (Fig. IV.5 y tablas IV.5 y IV.6), y que se mantiene durante la etapa de postsalado y la de maduración, pero es degradada en los últimos meses de la maduración, desapareciendo por completo en el jamón curado. Otras proteínas como la meromiosina pesada (114 kDa) se incrementa de forma importante durante la maduración desde 7.28 en postsalado hasta 36.35 mg equivalentes de BSA / g proteína miofibrilar al final del proceso, en el jamón curado “D.O. Teruel”, lo que representa un incremento del 80 % (tabla IV.7); se trataría de una proteína más resistente a los procesos proteolíticos con lo que su porcentaje relativo iría aumentando a lo largo del proceso simultáneamente a la disminución de otras proteínas más sensibles a la degradación.

Los desarrollos electroforéticos de las proteínas miofibrilares en las diferentes etapas para el músculo *semimembranosus* (Fig. IV.6) muestran que la mayoría de proteínas se ven afectadas de forma equivalente a lo observado para el músculo *biceps femoris*. No obstante hay que señalar algunas diferencias específicas de la fracción de proteínas miofibrilares del músculo *semimembranosus*. Se destaca la evolución de la actina (46.4 kDa), que presenta en jamón curado “D.O. Teruel” ya elaborado concentraciones de 39.32 mg equivalentes de BSA / g proteína miofibrilar en el músculo *semimembranosus*, frente 18.34 mg equivalentes de BSA / g proteína miofibrilar en el *biceps femoris* (tablas IV.7 y IV.8); en el mismo sentido

la cadena pesada de la miosina (140 kDa) aparece más degradada al final del proceso en el músculo *biceps femoris* que en el *semimembranosus*. Estos resultados se atribuyen a una menor actividad enzimática en el músculo *semimembranosus* al final del proceso, tal y como se ha observado en el estudio de actividad enzimática (apartado IV.2.3).

Los desarrollos electroforéticos de las proteínas miofibrilares para jamón en maduración y jamón curado de ambos músculos muestran la presencia de un elevado número de productos de degradación, lo que se refleja en la obtención de desarrollos más continuos con bandas más difuminadas, especialmente en la última muestra del proceso. Este efecto es especialmente marcado en el intervalo de proteínas de bajo peso molecular (< 13 kDa), donde el músculo *biceps femoris* presenta cantidades más elevadas (28.16 y 20.69 mg equivalentes de BSA / g proteína miofibrilar en jamón en maduración y jamón curado, respectivamente) frente al músculo *semimembranosus* (17.91 y 18.92 mg equivalentes de BSA / g proteína miofibrilar en jamón en maduración y 18.92 en jamón curado) lo que indica nuevamente una mayor proteólisis en el músculo *biceps femoris* al final del proceso (tablas IV.7 y IV.8). El estudio de la evolución de los componentes proteicos de bajo peso molecular a lo largo del proceso se lleva a cabo con mayor detalle en el apartado siguiente IV.2.2.3.

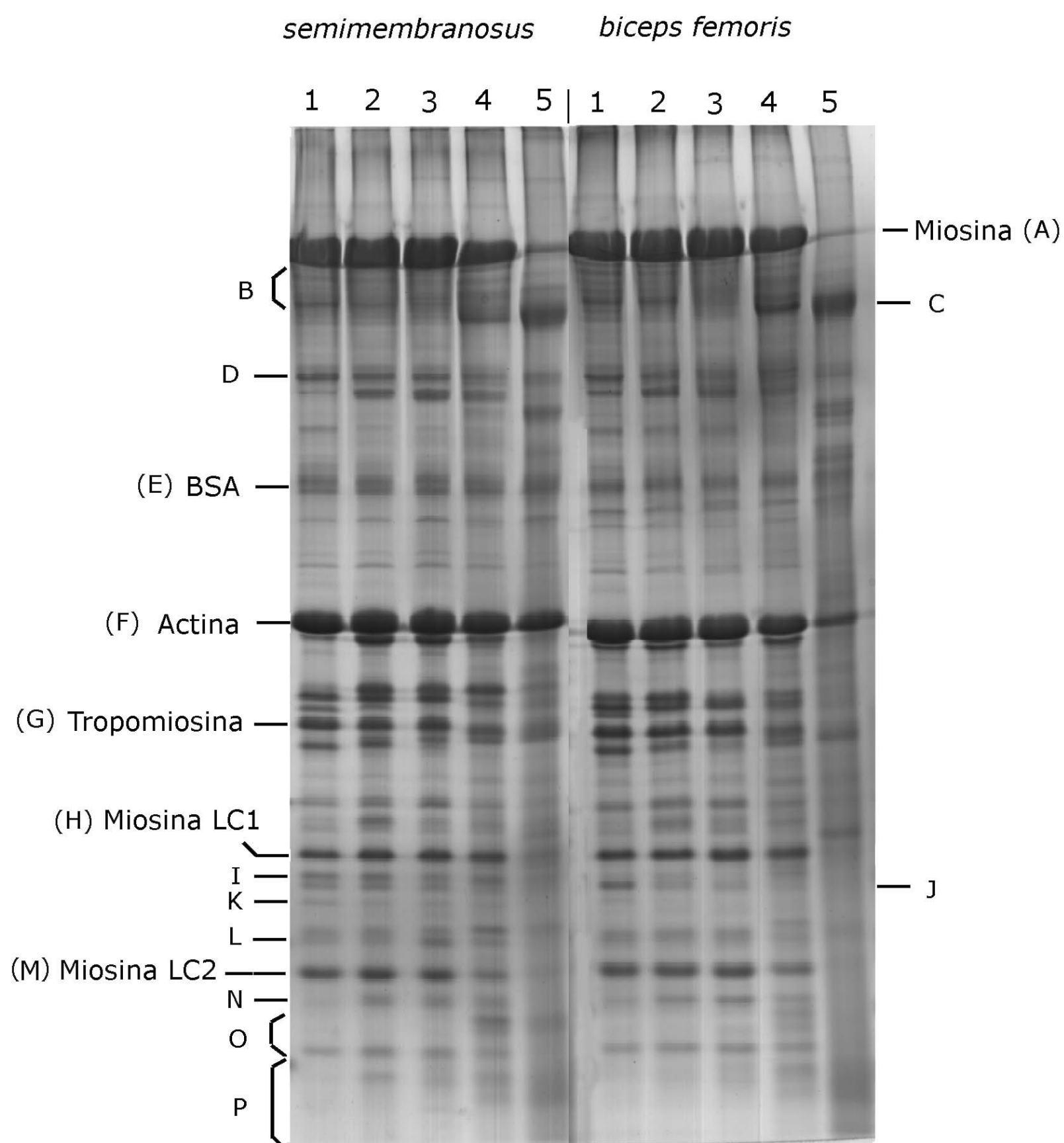


Figura IV.6. Electroforegrama obtenido por SDS-PAGE de las proteínas miofibrilares de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado "D.O. Teruel" (5). (los pesos moleculares de las bandas estudiadas son: A: 140 kDa, B: 127 kDa, C: 114 kDa, D: 97.3 kDa, E: 70.9 kDa, F: 46.4 kDa, G: 35.2 kDa, H: 24.7 kDa, I: 23.2 kDa, J: 21.3 kDa, K: 20.7 kDa, L: 19.2 kDa, M: 18 kDa, N: 17 kDa, O: 15.8 kDa, P: < 13.7 kDa).

Tabla IV.7. Semicuantificación de la fracción de proteínas miofibrilares, realizada a partir de los correspondientes densitogramas, del músculo *biceps femoris* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valor medio en mg equivalentes de BSA /g proteína miofibrilar, S: desviación estándar).

| Proteínas miofibrilares | biceps femoris | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|----------------|-------|--|-------|-------|--|-------|------|--|-------|-------|--|-------|------|--|--|
| | 1 | | | 2 | | | 3 | | | 4 | | | 5 | | | |
| | X | S | | X | S | | X | S | | X | S | | X | S | | |
| Muestras | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A- Cadena pesada Miosina (140 kDa) | 64.37 | 13.18 | | 68.62 | 15.90 | | 75.23 | 4.44 | | 53.19 | 2.11 | | 4.87 | 0.98 | | |
| B- M-proteína + C-proteína (127kDa) | 42.55 | 10.93 | | 39.56 | 8.74 | | 37.29 | 3.14 | | 29.43 | 10.42 | | 2.41 | 0.44 | | |
| C- Meromiosina pesada (114 kDa) | 10.26 | 2.85 | | 7.98 | 3.56 | | 7.28 | 3.12 | | 22.33 | 4.51 | | 36.35 | 5.64 | | |
| D- α -actinina (97.3 kDa) | 19.80 | 1.58 | | 14.69 | 1.07 | | 18.21 | 2.23 | | 17.73 | 2.41 | | 7.79 | 1.92 | | |
| E- BSA (70.9 kDa) | 14.29 | 0.00 | | 14.29 | 0.00 | | 14.29 | 0.00 | | 14.29 | 0.00 | | 14.29 | 0.00 | | |
| F- Actina (46.4 kDa) | 64.58 | 6.20 | | 59.29 | 19.08 | | 57.05 | 5.19 | | 44.18 | 1.47 | | 18.34 | 3.45 | | |
| G- β -tropomiosina (35.2 kDa) | 27.99 | 3.51 | | 25.37 | 7.74 | | 24.34 | 5.18 | | 15.98 | 1.34 | | 1.17 | 0.68 | | |
| H- Miosina LC1 (24.75 kDa) | 18.28 | 0.90 | | 16.74 | 7.39 | | 20.60 | 4.86 | | 17.11 | 0.67 | | 9.21 | 2.75 | | |
| I- Troponina I (23.2 kDa) | 2.70 | 2.67 | | 1.96 | 1.70 | | 1.12 | 0.95 | | 2.18 | 1.17 | | 3.15 | 0.43 | | |
| J- Proteínas 21.3 kDa | 5.21 | 2.62 | | 2.21 | 1.47 | | 0.50 | 0.30 | | 0.87 | 0.91 | | 2.83 | 0.97 | | |
| K- Troponina C (20.7 kDa) | 3.74 | 4.83 | | 4.70 | 5.93 | | 4.63 | 4.66 | | 2.66 | 0.44 | | 0.69 | 0.54 | | |
| L- Proteínas 19.2 kDa | 5.84 | 1.78 | | 5.70 | 1.80 | | 4.51 | 3.48 | | 4.49 | 0.49 | | 1.22 | 0.39 | | |
| M- Miosina LC2 (18 kDa) | 21.38 | 2.04 | | 21.89 | 5.61 | | 21.23 | 4.45 | | 10.13 | 1.19 | | 1.16 | 0.68 | | |
| N- Mioglobina (17 kDa) | 8.26 | 0.96 | | 11.94 | 4.43 | | 10.67 | 2.45 | | 8.18 | 4.92 | | 0.50 | 0.52 | | |
| O- Miosina LC3 + P. Degradación (15.8 kDa) | 2.47 | 0.46 | | 3.10 | 1.77 | | 3.82 | 0.03 | | 5.50 | 0.28 | | 2.06 | 0.29 | | |
| P- Proteínas < 13.7 kDa | 13.59 | 0.77 | | 17.85 | 5.02 | | 19.69 | 2.34 | | 28.16 | 2.40 | | 20.69 | 1.80 | | |

Tabla IV.8. Semicuantificación de la fracción de proteínas miofibrilares, realizada a partir de los correspondientes densitogramas, del músculo *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valor medio en mg equivalentes de BSA /g proteína miofibrilar, S: desviación estándar).

| Proteínas miofibrilares | | semimembranosus | | | | | | | | | |
|-------------------------|---|-----------------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|
| | | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | |
| Muestras | | X | S | X | S | X | S | X | S | X | S |
| A- | Cadena pesada Miosina (140 kDa) | 43.48 | 3.44 | 47.93 | 2.71 | 47.51 | 7.91 | 43.36 | 7.25 | 9.83 | 3.14 |
| B- | M-proteína + C-proteína (127kDa) | 22.56 | 1.00 | 20.86 | 1.36 | 17.94 | 2.46 | 26.42 | 1.05 | 8.35 | 3.64 |
| C- | Meromiosina pesada (114 kDa) | 7.26 | 1.13 | 5.58 | 1.83 | 4.86 | 0.18 | 13.27 | 0.59 | 36.02 | 4.36 |
| D- | α -actinina (97.3 kDa) | 13.07 | 0.24 | 11.66 | 0.00 | 9.49 | 0.63 | 9.78 | 0.40 | 7.57 | 0.64 |
| E- | BSA (70.9 kDa) | 14.29 | 0.00 | 14.29 | 0.00 | 14.29 | 0.00 | 14.29 | 0.00 | 14.29 | 0.00 |
| F- | Actina (46.4 kDa) | 45.67 | 2.56 | 47.10 | 2.19 | 40.74 | 0.55 | 41.08 | 4.07 | 39.32 | 2.41 |
| G- | β -tropomiosina (35.2 kDa) | 18.19 | 2.58 | 18.10 | 1.28 | 17.60 | 1.86 | 11.87 | 1.43 | 10.69 | 0.97 |
| H- | Miosina LC1 (24.75 kDa) | 11.03 | 2.11 | 16.22 | 0.49 | 14.32 | 0.58 | 16.73 | 5.23 | 9.21 | 4.48 |
| I- | Troponina I (23.2 kDa) | 3.40 | 0.30 | 3.32 | 0.10 | 2.00 | 0.03 | 3.33 | 0.93 | 1.49 | 0.56 |
| J- | Proteínas 21.3 kDa | 2.63 | 0.32 | 2.72 | 0.37 | 2.16 | 0.58 | 2.53 | 0.12 | 2.05 | 0.88 |
| K- | Troponina C (20.7 kDa) | 3.13 | 0.13 | 3.96 | 0.54 | 2.95 | 0.55 | 5.85 | 1.21 | 1.96 | 0.97 |
| L- | Proteínas 19.2 kDa | 2.75 | 0.48 | 3.01 | 0.90 | 5.15 | 0.12 | 3.31 | 0.75 | 2.76 | 1.68 |
| M- | Miosina LC2 (18 kDa) | 13.96 | 0.23 | 18.03 | 1.25 | 13.96 | 0.31 | 6.03 | 0.74 | 2.77 | 0.35 |
| N- | Mioglobina (17 kDa) | 3.42 | 1.83 | 8.23 | 2.51 | 6.02 | 0.51 | 4.19 | 0.36 | 1.46 | 0.45 |
| O- | Miosina LC3 + P. Degradación (15.8 kDa) | 0.96 | 0.37 | 1.15 | 0.92 | 2.11 | 0.91 | 10.78 | 0.57 | 8.16 | 1.26 |
| P- | Proteínas < 13.7 kDa | 6.53 | 0.95 | 14.12 | 1.87 | 13.69 | 0.53 | 17.91 | 2.94 | 18.92 | 3.02 |

IV.2.2.3. La fracción de compuestos de peso molecular 3-17 kDa

Convencionalmente, se utilizan las técnicas de electroforesis SDS-PAGE para separar polipéptidos superiores a 10 kDa (Weber & Osborn, 1969). Otras técnicas, como la cromatografía de líquidos de alta presión en fase reversa, se usan para el estudio de compuestos de peso molecular inferior a 1 kDa. Sin embargo, para el estudio de la fracción de péptidos entre 1 y 10 kDa, se necesitan otras técnicas como la cromatografía de líquidos de alta resolución de exclusión molecular (Feidt et al., 1998), la electroforesis SDS-PAGE en gradiente de poliacrilamida con un sistema tampón discontinuo (Bothe et al., 1985) o la electroforesis SDS-PAGE que añade un gel espaciador al gel convencional de separación y utiliza un tampón cátodo con tricina (Schägger & von Jagow, 1987). Esta última técnica es apropiada para el estudio de péptidos de peso molecular en el intervalo de 3-17 kDa, y es la que se ha utilizado en este trabajo (apartado III.2.4.3.c de Material y Métodos) para estudiar cómo evoluciona el perfil de péptidos durante el proceso de elaboración del jamón curado “D.O. Teruel”; además se realiza la semicuantificación por densitometría de los electroforegramas de los péptidos obtenidos en cada uno de los músculos y puntos del proceso estudiados.

En la figura IV.7 se presenta el electroforegrama obtenido por SDS-PAGE para los péptidos de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del pernil, pernil salado, jamón postsalado, jamón en maduración y del jamón curado “D.O. Teruel”, extraídos según el protocolo descrito en el apartado III.2.4.1.a. En las figuras VIII.7 y VIII.8 del Anexo I se presentan los densitogramas obtenidos a partir de los correspondientes desarrollos electroforéticos (Fig. IV.7). En la tabla IV.9 se muestran los datos obtenidos en la semicuantificación, realizada a partir de los distintos densitogramas, donde se expresa la concentración de péptidos en mg equivalentes de citocromo C / g proteína total.

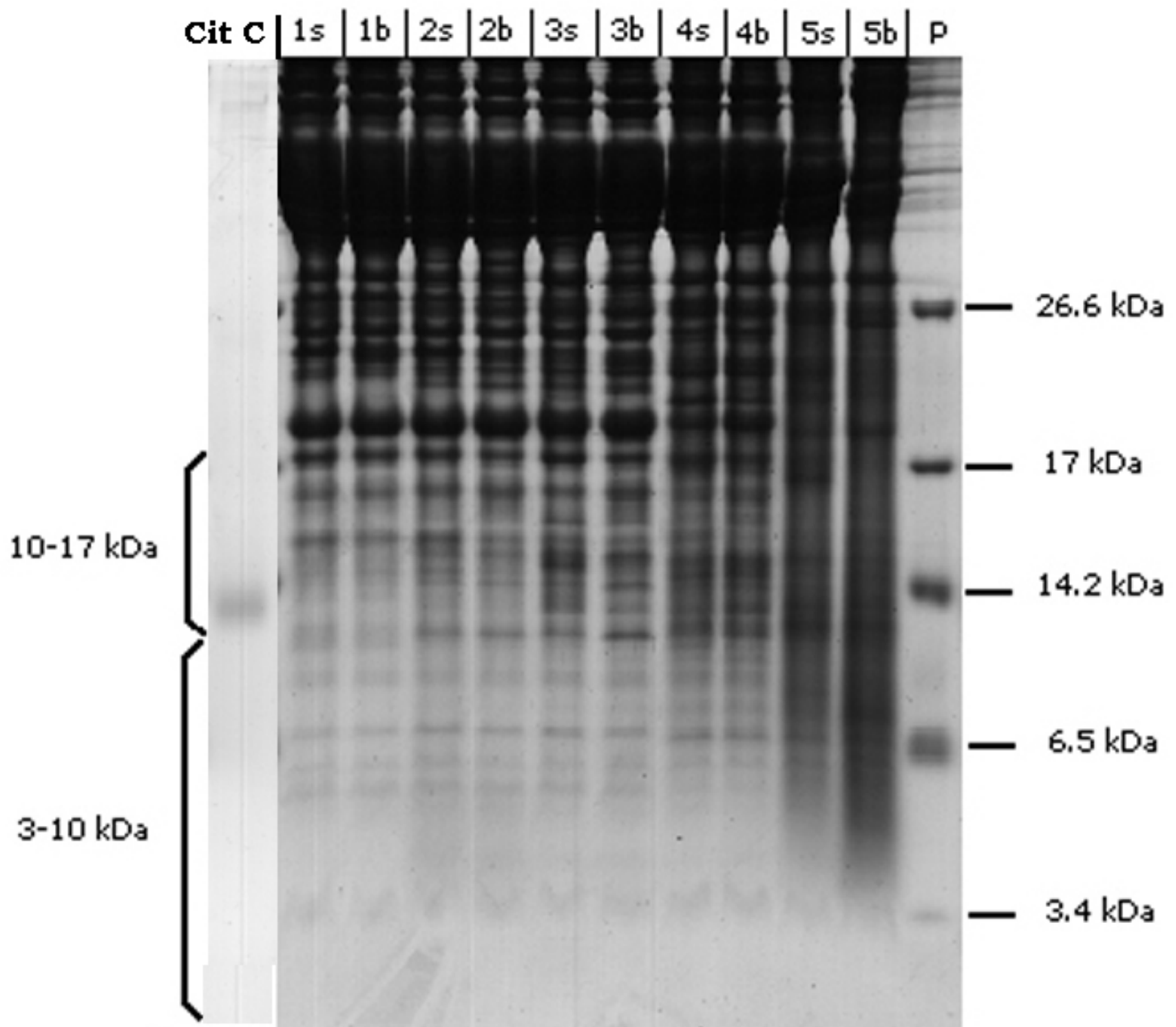


Figura IV. 7. Electroforegrama obtenido por SDS-PAGE de la fracción de péptidos de los músculos *biceps femoris* (b) y *semimembranosus* (s) del pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). P: proteínas patrón.

Tabla IV.9. Semicuantificación de la fracción de péptidos, realizada a partir de los correspondientes densitogramas, de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valores medios en mg equivalentes de citocromo C /g proteína total, S: desviación estándar.)

| <i>biceps femoris</i> | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|--------|------|
| Pm (kDa) | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | |
| | X | S | X | S | X | S | X | S | X | S |
| 10-17 | 36.00 | 3.50 | 48.12 | 0.02 | 73.41 | 1.53 | 95.18 | 0.90 | 105.85 | 0.51 |
| 3-10 | 11.00 | 1.47 | 21.52 | 1.29 | 29.85 | 1.83 | 47.40 | 1.47 | 174.38 | 2.97 |
| <i>semimembranosus</i> | | | | | | | | | | |
| Pm (kDa) | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | |
| | X | S | X | S | X | S | X | S | X | S |
| 10-17 | 42.08 | 0.56 | 52.95 | 3.26 | 74.56 | 0.81 | 95.60 | 2.13 | 106.86 | 2.42 |
| 3-10 | 12.30 | 0.06 | 25.49 | 0.06 | 23.99 | 0.67 | 47.70 | 0.51 | 110.28 | 0.09 |

En el músculo *biceps femoris* la concentración de péptidos aumenta gradualmente a lo largo del proceso desde 11.00 hasta 174.38 mg equivalentes de citocromo C /g proteína total en el intervalo de péptidos de 3-10 kDa, y desde 36.00 hasta 105.85 mg equivalentes de citocromo C /g proteína total en el intervalo de péptidos de 10-17 kDa.

Estos resultados indican que durante todo el proceso de elaboración de jamón curado se produce proteólisis en el músculo *biceps femoris* con aparición de los correspondientes productos de degradación de pesos moleculares comprendidos entre 3-17 kDa. Hay que destacar que la proteólisis más intensa tiene lugar durante la etapa de maduración en el músculo *biceps femoris*, con un aumento importante de los péptidos comprendidos entre 3-10 kDa; en la primera mitad de la maduración ya se produce un importante aumento desde 29.85 mg equivalentes de citocromo C /g proteína total, en jamón postsalado, hasta 47.40 mg equivalentes de citocromo C /g proteína total en jamón en maduración.

La proteólisis más intensa se produce en la segunda mitad de la maduración, donde tiene lugar un brusco aumento de los péptidos de 3-10 kDa hasta 174.38 mg equivalentes de citocromo C /g proteína total, en jamón curado “D.O. Teruel”.

Estos datos están de acuerdo con los resultados obtenidos sobre la evolución del nitrógeno soluble en este músculo (aptdo. IV.2.1), donde se comprueba que el aumento más importante de la fracción de nitrógeno soluble tiene lugar en la última mitad de la maduración.

Los resultados obtenidos de la semicuantificación de péptidos en los intervalos 3-10 kDa y 10-17 kDa para el músculo *semimembranosus* (tabla IV.9 y figura IV.8) son equivalentes a los del músculo *biceps femoris*, pero el incremento que se produce en la última mitad de la maduración es mucho más suave en este músculo, desde 47.70 mg equivalentes de citocromo C /g proteína total, en jamón en maduración hasta 110.28 mg equivalentes de citocromo C /g proteína total, al final del proceso en el jamón curado.

El incremento en la fracción de péptidos se atribuye a la acción continua de las proteinasas y peptidasas musculares sobre las proteínas del músculo durante todo el proceso de curado de jamones (Toldrá & Etherington, 1988). Esta acción proteolítica se produciría fundamentalmente sobre las proteínas miofibrilares tal y como se ha comprobado en el estudio de las fracciones totales y miofibrilares en el músculo *biceps femoris* y *semimembranosus* en apartados anteriores (aptdo. IV.2.2 y IV.2.2.2).

En los estudios de actividad enzimática que se han llevado a cabo en este trabajo (aptdo. IV.2.3) se observa que la actividad de diversas enzimas (catepsinas B + L, catepsina D) es más intensa en el músculo *biceps femoris* que en el *semimembranosus*, lo que estaría de acuerdo con los resultados obtenidos.

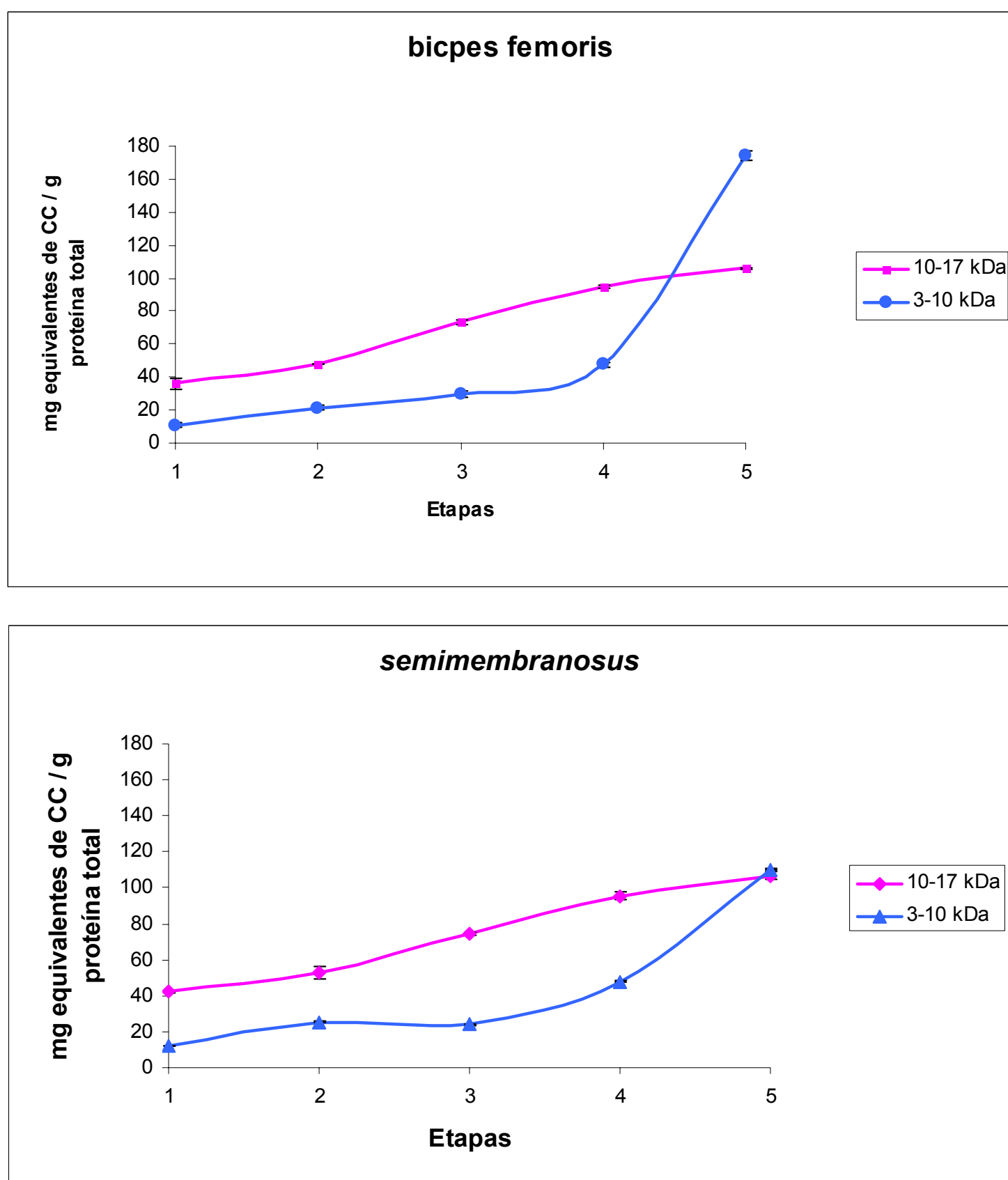


Figura IV.8. Valores medios de equivalentes de CC (mg) / g proteína total en la fracción de péptidos de pesos moleculares de 3-10 y 10-17 kDa de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado "D.O. Teruel" (5).

IV.2.3. LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Las enzimas juegan un papel importante en los procesos de curado de productos cárnicos como el jamón, desde el punto de vista de los cambios bioquímicos y ultraestructurales que se producen, especialmente la proteólisis que tiene lugar durante el proceso (Bellati et al., 1983; Flores et al., 1984). En particular hay que resaltar el papel de las catepsinas, enzimas endopeptidasas, que se han mostrado relevantes en estos procesos. Se ha demostrado que estas enzimas son bastante estables, y que permanecen activas durante todo el proceso de curado (Toldrá et al., 1993; Toldrá & Etherington, 1988; Gil et al., 1991; Parreño et al., 1994).

Los análisis *in vitro* muestran la facilidad de estas enzimas para degradar diferentes proteínas miofibrilares, como la cadena pesada de la miosina, la titina, las proteínas M y C, la actina, la tropomiosina y las troponinas I y T, sobre todo en el caso de las catepsinas L y D. La catepsina B es especialmente activa frente a la miosina (Schwartz & Bird, 1997) y a la actina (Hirao et al., 1984).

Durante el proceso de elaboración de jamón curado, las catepsinas y calpaínas proporcionan fragmentos proteicos y peptídicos como sustratos de las exopeptidasas (Toldrá, 1998c). Por otro lado, las aminopeptidasas están directamente relacionadas con la generación de aminoácidos (Toldrá et al., 2000). Otros grupos de enzimas relacionados con los fenómenos de degradación *postmortem* han sido menos estudiadas; uno de estos grupos de enzimas son las dipeptidilpeptidasas (DPP) I, II, III y IV, capaces de liberar diferentes dipéptidos desde el extremo amino terminal de grandes péptidos. La actividad de las dipeptidilpeptidasas ha sido medida en carnes crudas, donde se han visto diferencias entre distintos tipos de cerdos (Toldrá et al., 1996, Rosell & Toldrá, 1998). Además, existen estudios que demuestran la presencia de diversos péptidos en jamón curado (Rodríguez-Nuñez et al., 1995, Sentandreu & Toldrá, 2001a, Sentandreu et al., 2003). Estos dipéptidos deben contribuir, junto con otros compuestos volátiles, al desarrollo de las características sensoriales de los productos curados.

En el presente trabajo se han estudiado las actividades residuales de las enzimas catepsinas B + L, catepsina B y catepsina D, así como la actividad de algunas peptidasas (piroglutamilaminopeptidasa I y dipeptidilpeptidasa IV). La actividad enzimática residual en cada muestra se determina a partir de los extractos obtenidos de los cinco puntos estudiados a lo largo del proceso de elaboración, según los correspondientes protocolos experimentales (aptdo. III.2.4.4 de Material y Métodos).

IV.2.3.1. Actividad enzimática de catepsinas B + L y catepsina B

La tabla IV.10 muestra los valores de la actividad enzimática catepsina B + L y catepsina B, expresados en (nmol NHMec / min / g de carne (b.h.)), en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* durante el proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”.

Cuando la sal se ha equilibrado tras la etapa de postsalado, la actividad enzimática residual de las catepsinas B + L es de 2.51 nmol / min / g carne (b.h.) en el músculo *biceps femoris* y de 2.87 nmol / min / g carne (b.h.) en el músculo *semimembranosus*, lo que representa una actividad residual con respecto a la inicial del pernil de 95 y 86 %, respectivamente. La concentración de cloruros en el músculo *semimembranosus* tras la etapa de postsalado (apartado IV.I) es de 16.95 g NaCl / 100 g muestra (b.h.), bastante superior a la del *biceps femoris*, que es de 8.58 g NaCl / 100 g muestra (b.h.), y esto explicaría la menor actividad encontrada en el músculo *semimembranosus*. Al final del proceso, en jamón curado “D.O. Teruel”, en el músculo *biceps femoris* todavía se mantienen altos niveles de actividad enzimática residual (2.03 nmol NHMec/ min / g carne), mientras que en el músculo *semimembranosus* la actividad es de 1 nmol NHMec/ min / g carne; todo lo cual representa una actividad enzimática residual del 76 % para el músculo *biceps femoris* y del 29 % para el músculo *semimembranosus* con respecto a la actividad enzimática detectada en el pernil. En esta diferencia entre músculos al final del proceso podría influir las diferencias tanto en contenido de humedad (57.70 % en *biceps femoris* y 47.75 % en *semimembranosus*), como de NaCl, que están en relación opuesta (15.71 % en músculo *biceps femoris* y 11.43 % en el

músculo *semimembranosus*); todo ello explicaría la mayor actividad enzimática residual encontrada en el músculo *biceps femoris* más húmedo y más profundo.

Tabla IV.10. Valores de la actividad enzimática (nmol NHMeC / min / g carne (b.h.)) de catepsina B + L, y catepsina B en el músculo *biceps femoris* y en el músculo *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valor medio S, desviación típica, NHMeC: 7-amino-4-metilcumarina)

| | | Actividad catepsina B +L nmol NHMeC/min/g carne (b.h.) | | Actividad catepsina B nmol NHMeC/min/g carne (b.h.) | |
|------------------------|---|--|------|---|-------|
| | | X | S | X | S |
| Muestra | | X | S | X | S |
| <i>biceps femoris</i> | 1 | 2.65 | 0.41 | 0.51 | 0.03 |
| | 2 | 1.65 | 0.69 | 0.39 | 0.05 |
| | 3 | 2.51 | 0.53 | 0.39 | 0.001 |
| | 4 | 1.33 | 0.07 | 0.38 | 0.01 |
| | 5 | 2.03 | 0.17 | 0.34 | 0.02 |
| <i>semimembranosus</i> | 1 | 3.35 | 0.07 | 0.54 | 0.04 |
| | 2 | 1.29 | 0.10 | 0.19 | 0.03 |
| | 3 | 2.87 | 0.38 | 0.27 | 0.03 |
| | 4 | 1.57 | 0.23 | 0.27 | 0.02 |
| | 5 | 1.00 | 0.44 | 0.23 | 0.02 |

Respecto a la catepsina B, los resultados muestran una actividad enzimática residual de 76.5 % en el músculo *biceps femoris* y de 50 % en el músculo *semimembranosus* tras la etapa de postsalado, que desciende a 66 % y 42 % al final del proceso para estos mismos músculos. Estos resultados se explicarían de forma equivalente a la indicada en el párrafo anterior para la actividad de catepsinas B + L.

Las figuras IV.9 y IV.10 permiten visualizar mejor la pauta de evolución de estas actividades enzimáticas residuales en las muestras estudiadas. En efecto se observa que la actividad catepsina B en el músculo *biceps femoris* es superior a la del músculo *semimembranosus* en todo el proceso. Sin embargo la actividad catepsina B + L es mayor al principio del proceso en el músculo *semimembranosus*, mientras que al final, en jamón curado “D.O. Teruel”, la actividad residual catepsina B + L en el *biceps femoris* es superior a la del *semimembranosus*. Estos resultados están de acuerdo con los de Parreño et al. (1994).

Rico et al., (1990 y 1991) han visto que las catepsinas B y L se ven levemente afectadas por la concentración de NaCl. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran también que existe una actividad residual no despreciable y confirman la posible participación de estas enzimas en el fenómeno de proteólisis observado durante el proceso (aptdo. IV.2).

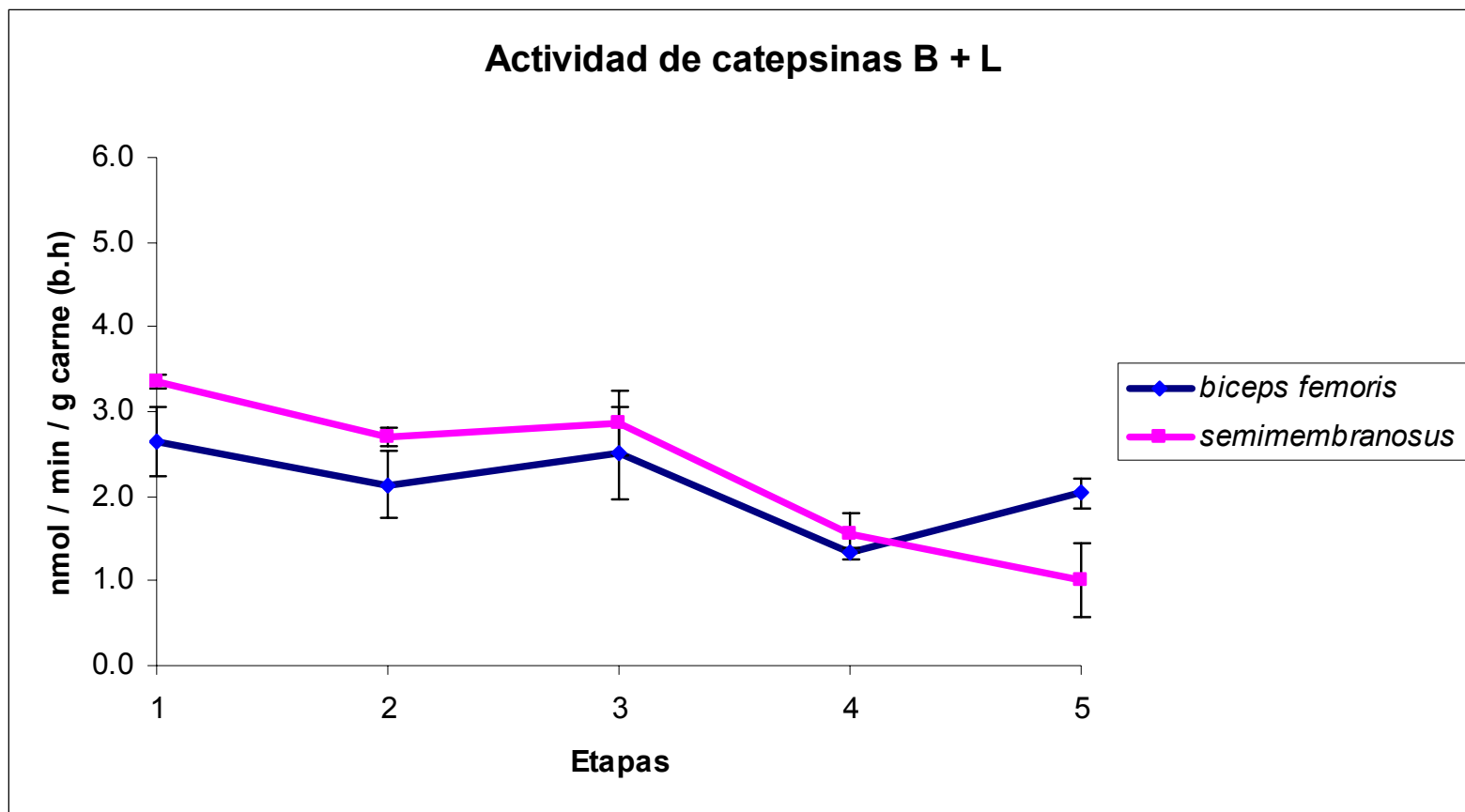


Figura IV.9. Evolución de los valores de actividad enzimática, (nmol NHMeC / min / g carne b.h.) de las catepsinas B + L en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5).

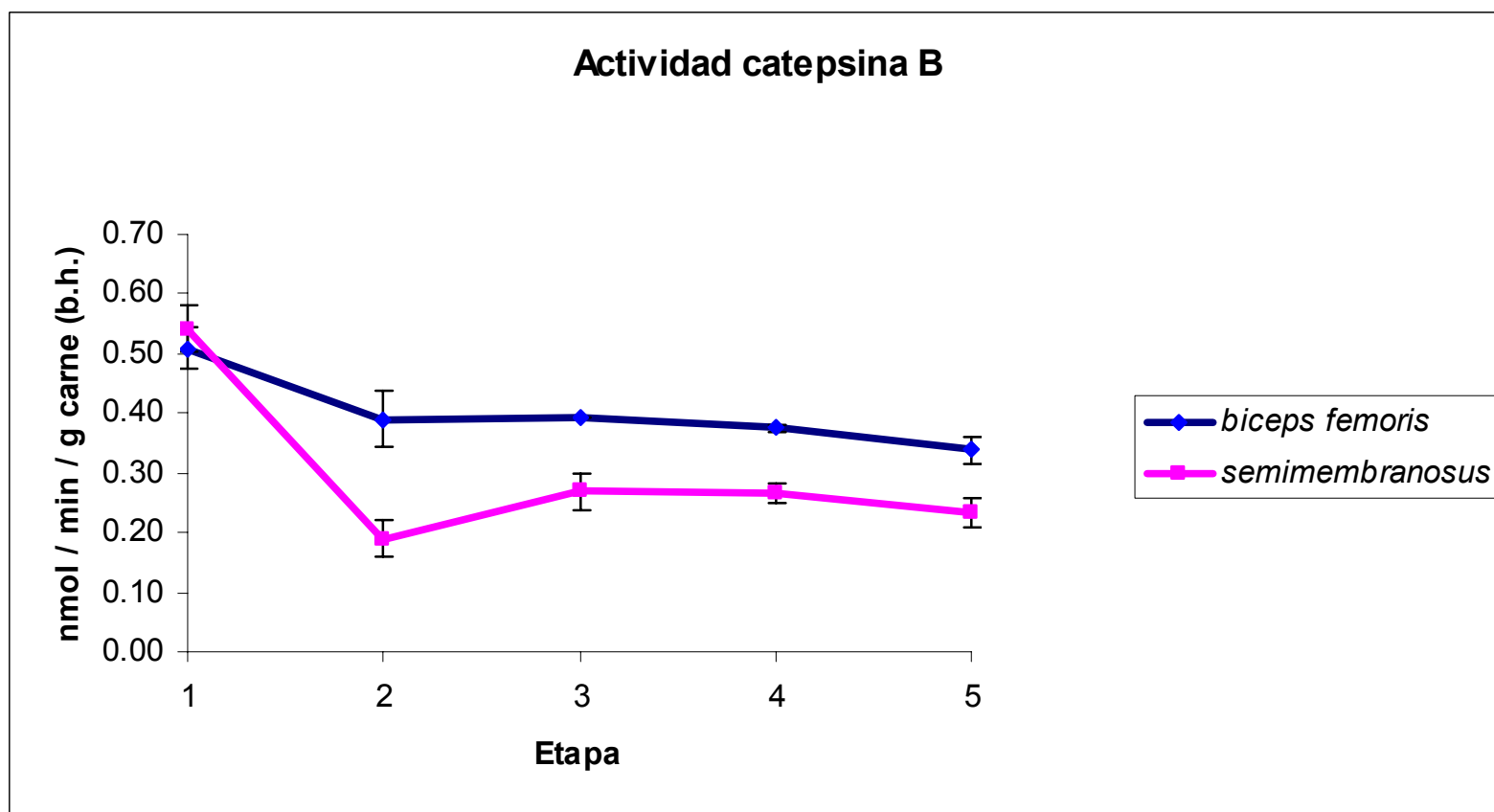


Figura IV.10. Evolución de los valores de actividad enzimática (nmol NHMeC / min / g carne b.h.) de la catepsina B en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5).

IV.2.3.2. Actividad enzimática de catepsina D

La tabla IV.11 muestra los valores de actividad enzimática de catepsina D, expresados en μg de hemoglobina degradada por min y por g de carne (b.h.), en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, durante el proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”. La figura IV.11 muestra la evolución de la actividad catepsina D en las diferentes muestras analizadas durante el proceso de elaboración.

La actividad residual en jamón curado “D.O. Teruel” es aproximadamente un 46 % de la inicial en el músculo *biceps femoris* y un 47 % en el músculo *semimembranosus*. En la figura IV.11 se puede ver que durante el proceso de curado, estas enzimas musculares pierden actividad muy lentamente y permanece una importante actividad al final del proceso, por lo que se puede atribuir también a ellas la intensa proteólisis que tiene lugar.

Al contrario de lo que ocurría con las actividades catepsina B + L y B, estudiadas en el apartado anterior, la actividad catepsina D es superior en el músculo *semimembranosus* a lo largo de todo el proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”.

Tabla IV.11. Valores de actividad enzimática de catepsina D (μg hemoglobina / min / g carne b.h.) en músculo *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valor medio; S: desviación típica).

| | | Catepsina D μg hemoglobina / min / g carne (b.h.) | |
|-------------------------------|---|---|------|
| Muestra | | X | S |
| <i>biceps femoris</i> | 1 | 41.73 | 2.31 |
| | 2 | 32.69 | 2.97 |
| | 3 | 22.34 | 4.81 |
| | 4 | 15.51 | 0.15 |
| | 5 | 19.58 | 1.41 |
| <i>semimembranosus</i> | 1 | 43.98 | 0.17 |
| | 2 | 36.05 | 1.52 |
| | 3 | 22.52 | 1.87 |
| | 4 | 25.56 | 0.49 |
| | 5 | 21.03 | 1.56 |

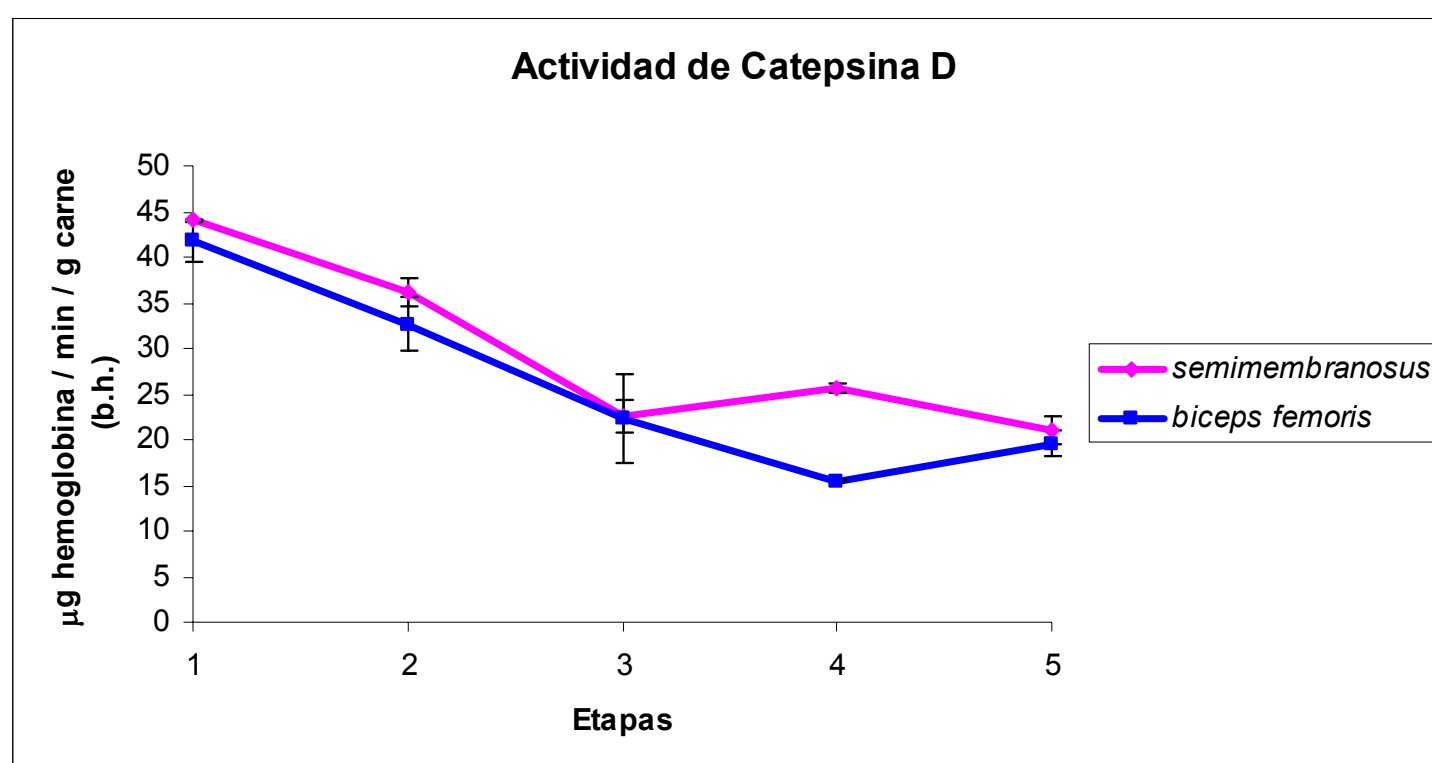


Figura IV.11. Evolución de los valores de actividad enzimática de la catepsina D (μg hemoglobina / min / g carne b.h.) en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5).

IV.2.3.3. Actividad enzimática de Piroglutamilaminopeptidasa I y Dipeptidilpeptidasa IV

Se ha estudiado la actividad enzimática de otras peptidasas como son la piroglutamilaminopeptidasa I y dipeptidilpeptidasa IV, cuyos resultados se presentan en la tabla IV.12. Los resultados se expresan en nmol NHMeC que se libera por min y por g de carne (b.h.). Estas enzimas, a diferencia de las catepsinas B, L y D, son exopeptidasas. En la figura IV. 12 se visualiza la evolución conjunta de estas actividades enzimáticas a lo largo del proceso de elaboración del jamón curado “D.O. Teruel”.

Tabla IV.12. Valores de actividad enzimática de PGAP I y DPP IV (nmol MHMeC / min / g carne b.h.) en músculo *biceps femoris* y en músculo *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valor medio; S: desviación típica; NHMeC: 7-amino 4-metilcumarina).

| | | PGAP I | | DDP IV | |
|-------------------------------|---|-----------------------------------|-------|-----------------------------------|-------|
| | | nmol NHMeC / min / g carne (b.h.) | | nmol NHMeC / min / g carne (b.h.) | |
| Muestra | | X | S | X | S |
| <i>biceps femoris</i> | 1 | 0.399 | 0.044 | 0.271 | 0.022 |
| | 2 | 0.352 | 0.015 | 0.188 | 0.005 |
| | 3 | 0.311 | 0.010 | 0.109 | 0.001 |
| | 4 | 0.092 | 0.014 | 0.052 | 0.001 |
| | 5 | 0.002 | 0.002 | 0.065 | 0.001 |
| <i>semimembranosus</i> | 1 | 0.509 | 0.031 | 0.408 | 0.004 |
| | 2 | 0.107 | 0.001 | 0.056 | 0.001 |
| | 3 | 0.110 | 0.002 | 0.055 | 0.001 |
| | 4 | 0.051 | 0.001 | 0.062 | 0.006 |
| | 5 | 0.014 | 0.003 | 0.093 | 0.007 |

En la tabla IV.12 se puede observar que tanto en el músculo *biceps femoris* como en el *semimembranosus* del pernil la actividad residual de la enzima PGAP I es relativamente baja. En el músculo *biceps femoris*, el valor de actividad PGAP I es de 0.399 nmol de NHMeC / min /g carne para el pernil, y esta actividad disminuye progresivamente a medida que avanza el proceso de elaboración, hasta alcanzar valores finales muy bajos en el jamón curado “D.O. Teruel” (0.002 nmol de NHMeC / min /g carne). En el músculo *semimembranosus* la actividad residual en pernil es de 0.509 nmol de NHMeC / min /g carne para la PGAP I y su valor desciende a 0.014 en el producto final.

En cuanto a la enzima DPP IV, los valores de actividad residual en el músculo *biceps femoris* son de 0.271 nmol de NHMeC / min /g carne (b.h.) en el pernil y esta actividad disminuye bruscamente ya en la etapa de salado, pero luego se sostiene a lo largo de todo el proceso hasta el producto final donde su valor es de 0.065 nmol de NHMeC / min /g carne (b.h.). En el músculo *semimembranosus* la actividad residual en pernil es de 0.408 nmol de NHMeC / min /g carne (b.h.) y esta actividad y desciende a 0.093 nmol de NHMeC / min /g carne (b.h.) en el producto final.

Sentandreu & Toldrá (2001b) estudian la actividad de diferentes dipeptidilpeptidasas durante el proceso de elaboración de jamón Serrano, y también el efecto del pH, la temperatura y la concentración de NaCl sobre su actividad. En el caso del efecto de la concentración de NaCl sobre la actividad dipeptidilpeptidasa, estos autores han encontrado que la presencia de NaCl, a las concentraciones que se encuentran en el jamón curado, ejerce un leve efecto sobre la actividad de la DPP I, y solamente se observa una moderada inhibición a altas concentraciones de sal. Por el contrario, se observa una fuerte inhibición de otras dipeptidilpeptidasas como son la DPP II, DPP III y DPP IV, producida por la presencia de NaCl en las condiciones del ensayo. La DPP II es la que sufre una inhibición más pronunciada y su inhibición se debe a la presencia del catión sodio. La DPP I mantiene su actividad hasta el final del proceso. Estos autores sugieren que es de esperar también una contribución de la actividad de la DPP IV durante el curado, la cual debe tener un importante papel en la hidrólisis de péptidos que

contienen residuos de prolina. La acción de la DPP II y DPP III tienen una baja actividad durante el salado y la maduración, debido a las condiciones de temperatura y pH, muy alejadas de su óptimo de actuación. Aún así, las enzimas DPP II, DPP III y DPP IV todavía conservan un porcentaje de su actividad a altas concentraciones de sal. Esta actividad residual puede ser relevante en la elaboración de productos con largos periodos de curado, como es el caso del jamón Serrano, que alcanzan hasta un total de 487 días de procesado en el citado trabajo (Sentandreu & Toldrá, 2001b).

También se conoce el efecto del NaCl sobre otras proteasas en carne de cerdo, como la alanil y piroglutamil aminopeptidasas, que son fuertemente inhibidas por la presencia de NaCl, mientras que la arginil aminopeptidasa muestra una activación por cloruro (Flores et al., 1997b).

Así pues, los resultados del presente trabajo sobre jamón “D.O. Teruel”, cuyo proceso de elaboración es más corto (365 días), orientan hacia la idea de que efectivamente la presencia de actividad residual de DPP IV al final del proceso pueda también indicar que se mantienen igualmente las actividades residuales de otras DPP, cuyo valor sería interesante estudiar en un futuro, puesto que todo este conjunto de enzimas debe influir en el desarrollo de los aromas típicos de este jamón.

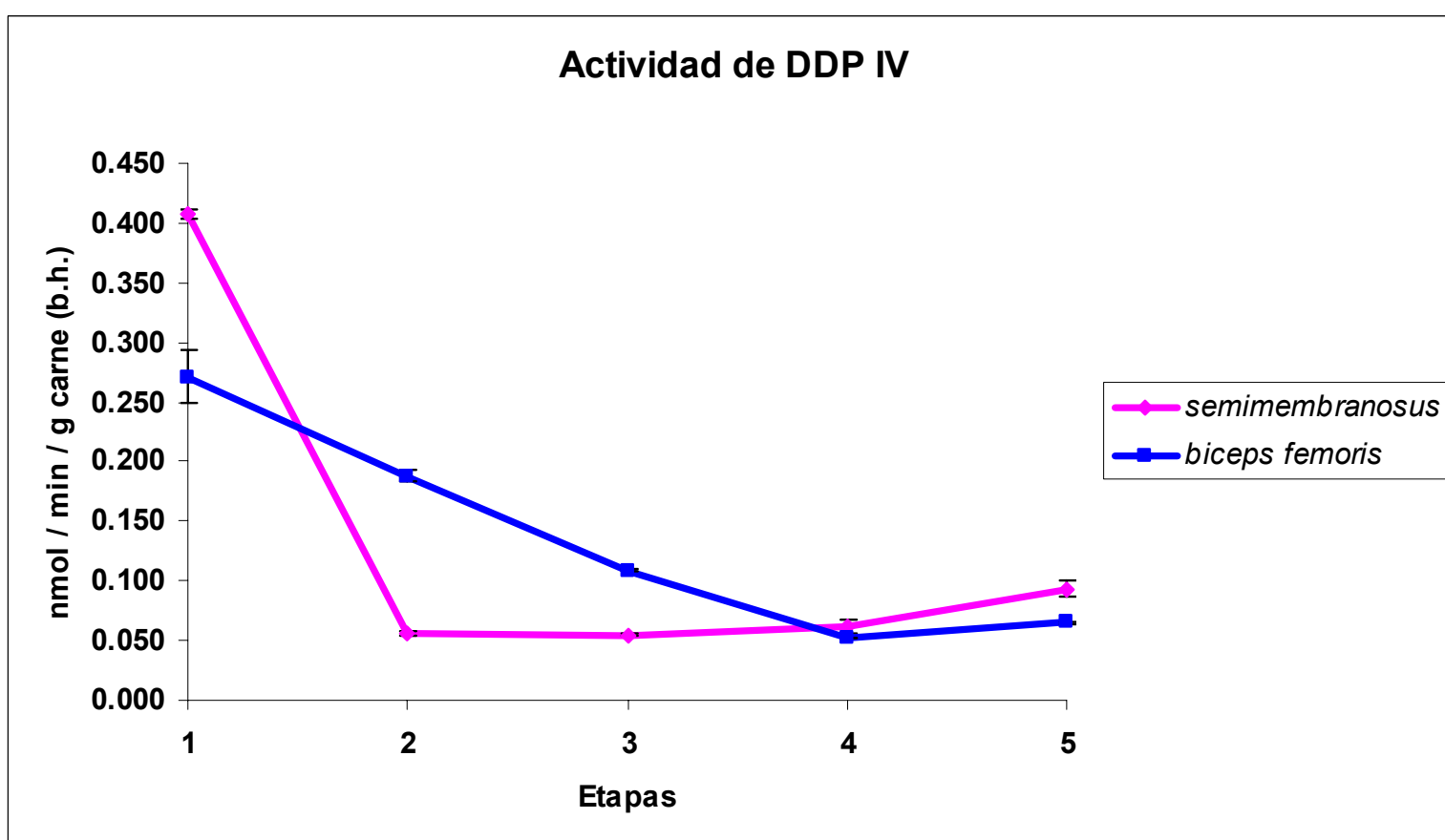
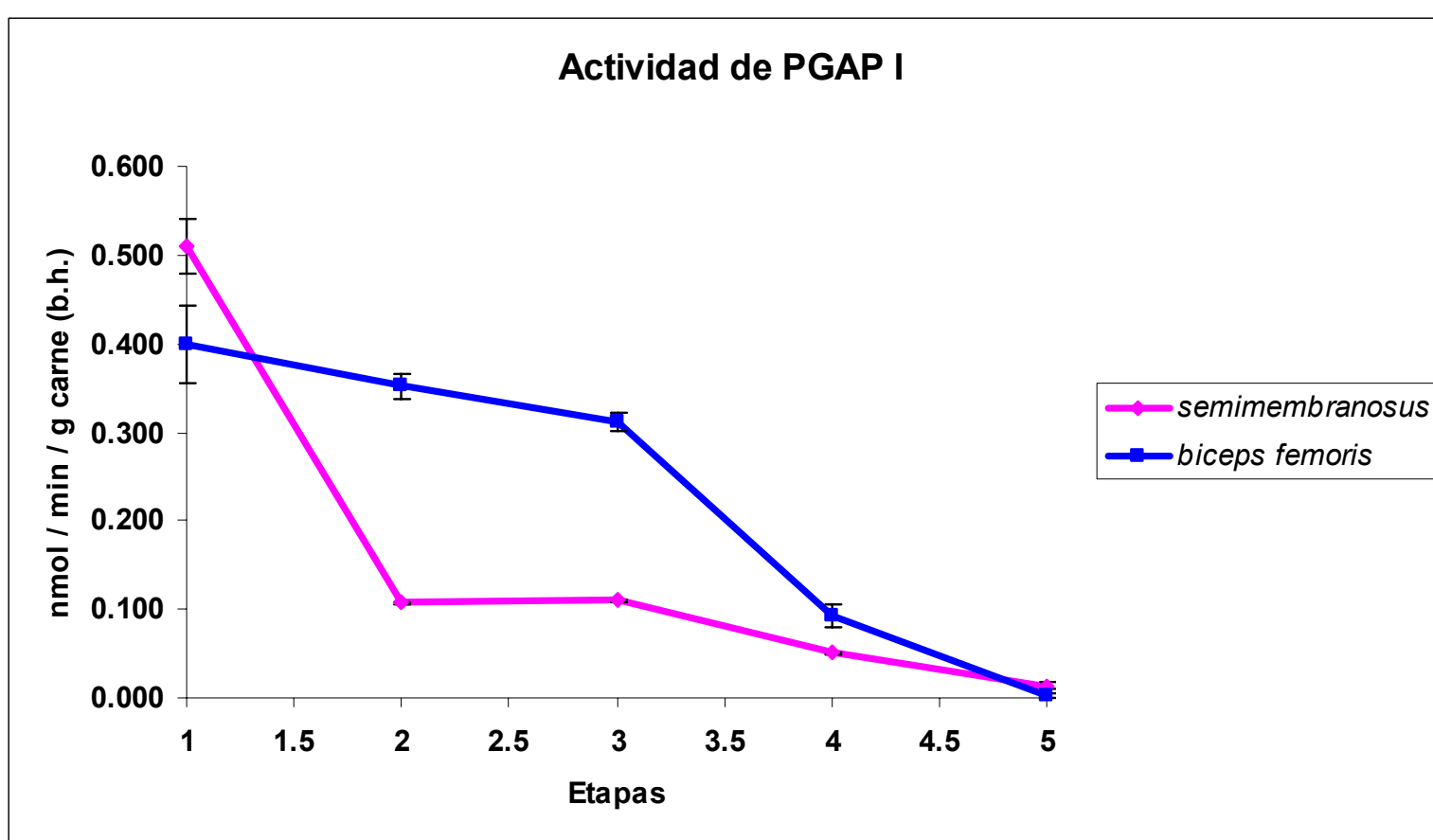


Figura IV.12. Evolución de los valores de actividad enzimática de la PGAP I y de la DDP IV en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (valores en nmol de NHMec que se liberan por min y por g de carne (b.h.)).

IV.3. ESTUDIO DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA. LIPOLISIS

El contenido en grasa del pernil que se utiliza como materia prima en el proceso de elaboración del jamón curado “D.O. Teruel”, así como su composición química, determina las características sensoriales del producto final (Baldini et al.; 1983); además, la composición química de la grasa es fundamental en la estabilidad de la misma frente a los procesos oxidativos. El desarrollo de las características sensoriales típicas del jamón está íntimamente relacionado con fenómenos de hidrólisis y oxidación de la grasa, lo cual constituye una notable excepción al proceso normal de enranciamiento oxidativo en donde se originan olores y sabores desagradables (Flores et al., 1985).

En este trabajo se estudian los componentes de la fracción lipídica presente en la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, así como de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* a lo largo del proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”. Se analiza la composición en ácidos grasos de estos componentes lipídicos por cromatografía de gases. Además se realiza una cromatografía preparativa en capa fina (según el protocolo descrito en el apartado III.2.5.2.c) con la que se separan las fracciones correspondientes a los acilglicéridos, fosfolípidos y ácidos grasos libres, y se estudia la composición en ácidos grasos de estas fracciones por cromatografía de gases. Por último se estudia la evolución de algunos índices de calidad de esta fracción como son el índice de acidez, el índice de peróxidos y el índice de yodo.

IV.3.1. LOS COMPONENTES LIPÍDICOS DE LA GRASA INTRAMUSCULAR

En el apartado IV.1 de este trabajo se cuantifica la grasa infiltrada en el tejido muscular o grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del pernil, que se utiliza como materia prima en el proceso de elaboración del jamón curado “D.O. Teruel”, y que es de 3.38 y 2.84 g grasa / 100 g muestra (b.h.), respectivamente. Los cambios químicos que sufren los componentes de esta grasa a lo largo del proceso representan, como se ha

comentado, un importante papel en las características finales del producto. En este apartado se estudian principalmente, dentro de la fracción lipídica global, las fracciones de triglicéridos, fosfolípidos y ácidos grasos libres, cuya variación se sigue mediante el análisis de la composición en ácidos grasos de cada una de ellas por cromatografía de gases. Se lleva a cabo también un seguimiento de la evolución de las fracciones minoritarias de monoglicéridos y diglicéridos.

IV.3.1.1. Composición en ácidos grasos de la grasa intramuscular

En la tabla IV.13 se muestra la composición en ácidos grasos de la fracción total de lípidos de la grasa intramuscular en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*. La fracción total se extrae según el protocolo descrito en el apartado III.2.5.2; las distintas muestras se estudian por cromatografía de gases y los resultados se expresan como porcentaje relativo de cada ácido graso con respecto al total de ácidos grasos presentes en esta fracción total.

En la fracción lipídica total (tabla IV.13) se observa que en el músculo *biceps femoris* de pernil, los ácidos grasos monoinsaturados son los más abundantes (45.99 %), seguidos de los ácidos grasos saturados (35.06 %) y de los ácidos grasos poliinsaturados (15.54 %). El ácido oleico y el ácido palmítico son los más importantes (41.5 y 22.67 %, respectivamente). Los ácidos grasos poliinsaturados contienen esencialmente ácido linoleico, que representa el 10.52 % del total. Los valores son muy similares a los encontrados en el músculo *semimembranosus* de pernil.

Se observa una disminución en el porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados a lo largo del proceso hasta mitad de la maduración, desde 15.54 % en pernil hasta 11.73 %, en el músculo *biceps femoris*. Estos ácidos grasos son los que sufren una alteración más importante en el proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”, ya que tanto la evolución de los ácidos grasos monoinsaturados (principalmente oleico) como de los saturados, sigue una tónica ligeramente ascendente; posiblemente estas fracciones se incrementan con productos de

saturación procedentes de los ácidos grasos poliinsaturados. Los ácidos grasos saturados constituyen el 35.06 % en el pernil del músculo *biceps femoris*, mientras que en jamón en maduración el porcentaje relativo de estos ácidos grasos es de 36.44 %.

Estos resultados son similares a los obtenidos por otros autores que estudian la composición de ácidos grasos en músculo de cerdo (Leseigneur-Meyner et al., 1991) y en jamón curado (Flores et al., 1987; Buscailhon et al., 1994 y Martín et al., 1999).

En la grasa de la carne de cerdo hay un porcentaje importante de ácidos grasos de las familias ω 6 (n-6) y ω 3 (n-3), como son el ácido linoleico (n-6), el ácido linolénico (n-3), el docosahexaenoico (n-3) o el eicosapentenoico (n-3) (Belitz et al., 1997). Algunos se consideran ácidos grasos esenciales, ya que no pueden ser sintetizados por el organismo y son necesarios para diferentes funciones, como es la síntesis de membranas biológicas. Debido al importante papel nutricional que en los últimos años se ha atribuido a los ácidos grasos n-3 y n-6, es importante destacar que en el proceso de elaboración del jamón curado “D.O. Teruel” todavía se encuentran presentes en el producto final, aproximadamente un 75 % de ácidos poliinsaturados (hay 15.54 % de ácidos poliinsaturados en pernil que disminuyen a 13.46 % en jamón curado), lo que supone un dato nutricional interesante en este producto cárnico, que además posee un alto porcentaje de ácido oleico (44.69 %), cuyas propiedades nutricionales también han sido demostradas (Mata et al., 2002).

Los resultados observados en el músculo *semimembranosus* son del mismo orden que los comentados para el músculo *biceps femoris*.

VI.3.1.1.a. Composición en ácidos grasos de la fracción de triglicéridos

La composición en ácidos grasos de la fracción de triglicéridos, en el músculo *biceps femoris* y en el *semimembranosus*, en los distintos puntos del proceso de elaboración estudiados, se presenta en la tabla IV.14. En la fracción de triglicéridos de la grasa intramuscular del músculo *biceps femoris* de pernil, los ácidos grasos monoinsaturados son los más abundantes y representan 55.46 % del total de ácidos grasos analizados, seguidos de los ácidos grasos saturados (37.28 %) y de los ácidos grasos poliinsaturados (6.74 %). El ácido oleico y el ácido palmítico representan los porcentajes más elevados con un 49.87 y 24.78%, respectivamente. Entre los ácidos grasos poliinsaturados destaca el ácido linoleico que representa un 4.87 % del total de ácidos grasos en esta fracción. Los valores encontrados en el músculo *semimembranosus* de pernil son muy similares.

Los datos correspondientes a los valores iniciales en el pernil y finales en el jamón curado “D.O. Teruel”, de los porcentajes de ácidos grasos saturados, ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos poliinsaturados, se resaltan en la tabla IV.14 para ambos músculos.

Ya que la fracción de triglicéridos es mayoritaria dentro de la fracción de lípidos en la carne de cerdo (tabla IV.17), como es de esperar, el perfil de la composición en ácidos grasos es similar a la observada en la fracción lipídica total estudiada en el apartado IV.3.1.1. Sin embargo, según los datos que se presentan en la tabla IV.14 los ácidos grasos pertenecientes a la fracción de triglicéridos se mantienen bastante inalterados a lo largo del proceso tanto en el músculo *biceps femoris* como en el *semimembranosus*. Es sabido que a lo largo del proceso de elaboración del jamón curado “D.O. Teruel” tienen lugar una serie de procesos de oxidación en la fracción lipídica. Los resultados obtenidos indican que los productos de oxidación que se generan en los procesos lipolíticos y que son tan importantes en las características organolépticas del jamón curado, no provienen de la fracción de triglicéridos a pesar de ser una fracción mayoritaria.

IV.3.1.1.b. Composición en ácidos grasos de la fracción de fosfolípidos

La composición en ácidos grasos de la fracción de fosfolípidos, en el músculo *biceps femoris* y en el *semimembranosus*, en los distintos puntos del proceso de elaboración estudiados, se presenta en la tabla IV.15. En la fracción de fosfolípidos (tabla IV.15) se observa que en el músculo *biceps femoris* de pernil, los ácidos grasos poliinsaturados son los más abundantes (42.75 %), donde el ácido linoleico es mayoritario y representa un 27.39 % del total de ácidos grasos en esta fracción. Los ácidos grasos saturados representan un 25.09 %, siendo los ácidos grasos palmítico y esteárico mayoritarios (12.46 y 11.61 %, respectivamente). Los ácidos grasos monoinsaturados suponen un 16.22 % del total de ácidos grasos en esta fracción, y el ácido oleico es el mayoritario y representa 15.21 %.

Hay que destacar, en la fracción de fosfolípidos, que a lo largo del proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”, los ácidos grasos que se ven más afectados son los ácidos grasos poliinsaturados, desde 42.75 % en el músculo *biceps femoris* de pernil hasta 39.78 % en el músculo *biceps femoris* al final del proceso. Es sabido que los ácidos grasos poliinsaturados son especialmente sensibles a los fenómenos de oxidación y degradación tanto vía enzimática como vía autooxidación lipídica; la fracción de fosfolípidos es especialmente rica en este tipo de ácidos grasos y esto explica que se vea más afectada que la fracción de triglicéridos a lo largo del proceso de elaboración.

El aumento observado al final del proceso en el porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados en el músculo *biceps femoris* (de 16.22 % en pernil hasta 19.16 % en jamón curado), sería un aumento relativo debido a la disminución sufrida por los ácidos grasos poliinsaturados que estarían especialmente afectados por los procesos oxidativos que tienen lugar de forma más importante en la última etapa de la maduración.

En la composición en ácidos grasos de la fracción de fosfolípidos del músculo *semimembranosus* (tabla IV.15), se observan algunas diferencias con respecto al músculo *biceps femoris*. Aunque los ácidos grasos poliinsaturados siguen siendo

los más abundantes (43.71 %), cifra algo superior al 42.75 % en el músculo *biceps femoris*, los ácidos grasos saturados representan el 30.84 % y el ácido palmítico es el más importante, con 17.75 % frente al 12.46 % que representaba en *biceps femoris*. Se observa una ligera menor proporción de ácidos grasos monoinsaturados (15.25 % en *semimembranosus* frente a 16.22 % en el *biceps femoris*). A lo largo del proceso parecen verse también afectados de forma importante los ácidos grasos saturados (de 30.84 % en pernil hasta 22.54 % en jamón curado), junto con los ácidos grasos poliinsaturados (de 43.71 % en pernil hasta 41.01% en jamón curado), mientras que aumenta ligeramente la proporción de ácidos monoinsaturados (de 12.25 % en pernil hasta 17.40% en jamón curado).

IV.3.1.1.c. Composición en ácidos grasos de la fracción de ácidos grasos libres

En la tabla IV.16 se muestra la composición en ácidos grasos de la fracción de ácidos grasos libres de la grasa intramuscular del músculo *biceps femoris* y *semimembranosus*, en distintos puntos del proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”.

En la fracción de ácidos grasos libres de la grasa intramuscular del músculo *biceps femoris* de pernil, la cantidad de ácidos grasos saturados y poliinsaturados son similares, aunque los ácidos grasos poliinsaturados presentan un porcentaje ligeramente superior (37.76 frente a 36.16 % de los saturados). Dentro de los saturados, el mayoritario es el ácido palmítico (24.62 %) seguido del ácido esteárico (10.54 %). El ácido oleico representa un 25.30 % del total de ácidos grasos analizados, mientras que el mayoritario en la fracción de ácidos grasos poliinsaturados es el ácido linoleico (27.20 %).

Hay que destacar que al final del proceso, en la grasa intramuscular del músculo *biceps femoris* de jamón curado “D.O. Teruel”, la composición en ácidos grasos libres poliinsaturados ha aumentado respecto al pernil (de 37.76 % a 44.18 %). La disminución observada en los porcentajes relativos de los ácidos grasos saturados (de 36.16 % a 33.05 %) y monoinsaturados (de 25.85 % a 21.66 %) se podría atribuir a este aumento en el porcentaje relativo de los ácidos grasos

poliinsaturados dentro de la fracción de ácidos grasos libres. Este resultado indicaría que, del conjunto de ácidos grasos presentes en la fracción lipídica total de la grasa intramuscular, los ácidos grasos poliinsaturados serían los que se liberan preferentemente en los procesos de hidrólisis, importantes como fase previa a la oxidación. Si se tiene en cuenta que es en la fracción de fosfolípidos donde se produce un descenso más importante de los ácidos grasos poliinsaturados, se podría decir que los ácidos grasos poliinsaturados analizados en la fracción de ácidos grasos libres a lo largo del proceso, procederían fundamentalmente de la fracción de fosfolípidos.

En el músculo *semimembranosus* se observa la misma tendencia observada en el músculo *biceps femoris* a lo largo del proceso de elaboración (tabla IV.16), igualmente con un aumento del porcentaje relativo de los ácidos grasos poliinsaturados.

En ambos músculos, los ácidos grasos mayoritarios al final del proceso, en jamón curado “D.O. Teruel”, son el ácido linoleico (29.89 % en ambos músculos), el ácido oleico (20.64 % en *biceps femoris* y 21.04 % en *semimembranosus*), el ácido palmítico (19.73 % y 19.21 %, respectivamente) y el ácido esteárico (12.20 % y 11.97 %, respectivamente).

Tabla IV.13. Composición en ácidos grasos (g ácido graso / 100 g ácidos grasos totales) de la grasa intramuscular en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). Las correspondientes desviaciones estándar se presentan en el Anexo II.

| FRACCIÓN TOTAL | <i>biceps femoris</i> | | | | | <i>semimembranosus</i> | | | | |
|-----------------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Ácidos grasos | | | | | | | | | | |
| C14:0 | 1.26 | 1.06 | 1.13 | 1.13 | 1.27 | 1.40 | 0.94 | 1.20 | 1.12 | 1.15 |
| C16:0 | 22.67 | 22.87 | 22.61 | 22.76 | 22.90 | 22.19 | 21.78 | 23.05 | 22.71 | 22.79 |
| C18:0 | 10.54 | 10.83 | 12.15 | 11.89 | 11.07 | 10.09 | 10.26 | 11.85 | 11.49 | 11.17 |
| Otros ¹ | 0.60 | 0.50 | 0.57 | 0.66 | 0.56 | 0.80 | 0.63 | 0.65 | 0.67 | 0.56 |
| Total saturados | 35.06 | 35.26 | 36.46 | 36.44 | 35.82 | 34.50 | 33.63 | 36.75 | 35.98 | 35.67 |
| C16:1 | 3.63 | 3.16 | 3.30 | 2.85 | 3.62 | 3.44 | 2.66 | 3.18 | 2.73 | 3.07 |
| C18:1 | 41.45 | 44.69 | 46.80 | 46.46 | 44.69 | 41.30 | 40.56 | 45.52 | 45.24 | 41.22 |
| Otros ² | 0.92 | 1.03 | 0.96 | 0.88 | 0.69 | 0.31 | 1.13 | 0.98 | 0.90 | 0.73 |
| Total monoinsaturados | 45.99 | 48.88 | 51.06 | 50.20 | 48.99 | 45.06 | 44.35 | 49.68 | 48.88 | 45.02 |
| C18:2 (n-6) | 10.52 | 10.07 | 7.14 | 9.03 | 9.76 | 11.49 | 13.69 | 7.82 | 9.92 | 12.55 |
| C20:4 (n-6) | 1.83 | 1.50 | 1.35 | 0.80 | 1.63 | 2.50 | 2.78 | 1.33 | 1.32 | 2.26 |
| Otros ³ | 1.25 | 1.08 | 0.91 | 0.92 | 1.09 | 1.24 | 1.47 | 0.91 | 0.97 | 1.33 |
| TOTAL n-6 | 13.61 | 12.65 | 9.40 | 10.75 | 12.48 | 15.23 | 17.95 | 10.07 | 12.22 | 16.14 |
| C18:3 (n-3) | 0.48 | 0.43 | 0.35 | 0.52 | 0.42 | 0.70 | 0.55 | 0.42 | 0.57 | 0.53 |
| C20:5 (n-3) | 0.14 | 0.08 | 0.06 | 0.06 | 0.08 | 0.10 | 0.13 | 0.05 | 0.07 | 0.11 |
| C22:5 (n-3) | 0.34 | 0.20 | 0.17 | 0.19 | 0.27 | 0.43 | 0.42 | 0.15 | 0.22 | 0.38 |
| Otros ⁴ | 0.97 | 0.18 | 0.04 | 0.21 | 0.20 | 0.06 | 0.18 | 0.06 | 0.25 | 0.28 |
| TOTAL n-3 | 1.93 | 0.88 | 0.62 | 0.98 | 0.98 | 1.30 | 1.29 | 0.67 | 1.11 | 1.30 |
| Total poliinsaturados | 15.54 | 13.53 | 10.02 | 11.73 | 13.46 | 16.53 | 19.23 | 10.74 | 13.33 | 17.44 |

1: C12:0, C15:0, C17:0; 2: C14:1, C17:1; 3: C18:3 (n-6), C20:2 (n-6), C22:4 (n-6); 4: C20:3 (n-3), C22:6 (n-3)

Tabla IV.14. Composición en ácidos grasos (g ácido graso / 100 g ácidos grasos totales) de la fracción de triglicéridos en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). Las correspondientes desviaciones estándar se presentan en el Anexo II.

| TRIGLICÉRIDOS | <i>biceps femoris</i> | | | | | <i>semimembranosus</i> | | | | |
|-------------------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Ácidos grasos | | | | | | | | | | |
| C14:0 | 1.69 | 1.21 | 1.27 | 1.21 | 1.43 | 1.68 | 1.26 | 1.31 | 1.19 | 1.44 |
| C16:0 | 24.78 | 23.55 | 23.93 | 23.38 | 24.49 | 24.88 | 23.49 | 24.14 | 22.33 | 24.08 |
| C18:0 | 10.24 | 10.83 | 11.55 | 11.83 | 11.10 | 10.20 | 10.09 | 12.19 | 11.07 | 11.06 |
| Otros ¹ | 0.58 | 0.58 | 0.59 | 0.62 | 0.50 | 0.62 | 0.67 | 0.63 | 0.57 | 0.53 |
| Total saturados | 37.28 | 36.16 | 37.34 | 37.05 | 37.51 | 37.37 | 35.51 | 38.26 | 35.16 | 37.11 |
| C16:1 | 4.64 | 3.74 | 3.66 | 3.00 | 4.04 | 4.37 | 3.73 | 3.41 | 2.84 | 3.90 |
| C18:1 | 49.87 | 49.93 | 50.49 | 49.32 | 49.59 | 47.37 | 49.02 | 48.40 | 45.82 | 49.05 |
| Otros ² | 0.95 | 1.07 | 0.96 | 1.05 | 0.95 | 1.05 | 1.20 | 1.22 | 1.08 | 0.91 |
| Total monoinsaturados | 55.46 | 54.74 | 55.11 | 53.38 | 54.58 | 52.79 | 53.95 | 53.03 | 49.75 | 53.87 |
| C18:2 (n-6) | 4.87 | 6.28 | 4.45 | 7.05 | 5.78 | 7.13 | 7.08 | 5.58 | 7.33 | 6.75 |
| C20:4 (n-6) | 0.21 | 0.12 | 0.20 | 0.23 | 0.15 | 0.26 | 0.26 | 0.21 | 0.21 | 0.24 |
| Otros ³ | 0.41 | 0.57 | 0.54 | 0.67 | 0.62 | 0.61 | 0.77 | 0.66 | 0.62 | 0.63 |
| TOTAL n-6 | 5.50 | 6.97 | 5.19 | 7.94 | 6.55 | 8.00 | 8.11 | 6.45 | 8.16 | 7.63 |
| C18:3 (n-3) | 0.43 | 0.48 | 0.34 | 0.52 | 0.40 | 0.60 | 0.59 | 0.42 | 0.55 | 0.45 |
| C20:5 (n-3) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.01 |
| C22:5 (n-3) | 0.00 | 0.04 | 0.05 | 0.08 | 0.06 | 0.00 | 0.00 | 0.06 | 0.09 | 0.03 |
| Otros ⁴ | 0.82 | 0.72 | 0.85 | 0.07 | 0.14 | 0.50 | 0.49 | 0.82 | 0.08 | 0.08 |
| TOTAL n-3 | 1.25 | 1.24 | 1.24 | 0.68 | 0.60 | 1.11 | 1.08 | 1.30 | 0.76 | 0.56 |
| Total poliinsaturados | 6.74 | 8.21 | 6.43 | 8.62 | 7.15 | 9.10 | 9.20 | 7.75 | 9.37 | 8.19 |
| Poliinsaturados / total | 0.07 | 0.08 | 0.06 | 0.09 | 0.07 | 0.09 | 0.09 | 0.08 | 0.09 | 0.08 |

¹: C12:0, C15:0, C17:0; ²: C17:1, C20:1; ³: C18:3 (n-6), C20:2 (n-6), C20:3 (n-6), C22:4 (n-6), C22:5 (n-6), C22:6 (n-3); ⁴: C20:3 (n-3), C22:6 (n-3)

Tabla IV.15. Composición en ácidos grasos (g ácido graso / 100 g ácidos grasos totales) de la fracción de fosfolípidos de la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). Las correspondientes desviaciones estándar se presentan en el Anexo II.

| FOSFOLÍPIDOS | <i>biceps femoris</i> | | | | | <i>semimembranosus</i> | | | | |
|-------------------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Ácidos grasos | | | | | | | | | | |
| C14:0 | 0.14 | 0.29 | 0.35 | 0.13 | 0.31 | 0.17 | 0.17 | 0.15 | 0.25 | 0.17 |
| C16:0 | 12.46 | 17.13 | 15.31 | 17.50 | 15.47 | 17.75 | 15.27 | 14.80 | 14.99 | 14.00 |
| C18:0 | 11.61 | 12.79 | 9.32 | 12.61 | 9.92 | 12.20 | 12.93 | 11.79 | 10.81 | 8.37 |
| Otros ¹ | 0.88 | 0.37 | 0.00 | 0.34 | 0.00 | 0.72 | 1.16 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Total saturados | 25.09 | 30.58 | 24.98 | 30.58 | 25.70 | 30.84 | 29.52 | 26.74 | 26.05 | 22.54 |
| C16:1 | 0.71 | 0.37 | 0.00 | 0.60 | 0.00 | 0.87 | 0.76 | 0.00 | 0.12 | 0.00 |
| C18:1 | 15.21 | 16.80 | 15.01 | 14.72 | 18.53 | 13.26 | 17.27 | 16.47 | 17.04 | 16.59 |
| Otros ² | 0.29 | 1.42 | 1.32 | 1.53 | 0.63 | 1.12 | 0.97 | 2.04 | 1.26 | 0.80 |
| Total monoinsaturados | 16.22 | 18.59 | 16.33 | 16.86 | 19.16 | 15.25 | 19.00 | 18.51 | 18.42 | 17.40 |
| C18:2 (n-6) | 27.39 | 28.71 | 32.14 | 30.17 | 32.48 | 29.50 | 26.83 | 29.34 | 32.09 | 32.98 |
| C20:4 (n-6) | 11.68 | 5.67 | 7.06 | 0.03 | 6.79 | 10.67 | 11.50 | 6.29 | 4.52 | 6.76 |
| Otros ³ | 3.68 | 2.61 | 0.00 | 2.88 | 0.51 | 2.97 | 3.39 | 2.67 | 1.23 | 1.27 |
| TOTAL n-6 | 42.75 | 36.99 | 39.20 | 33.08 | 39.78 | 43.14 | 41.73 | 38.30 | 37.84 | 41.01 |
| C18:3 (n-3) | 0.67 | 0.65 | 0.00 | 0.47 | 0.00 | 0.64 | 0.67 | 0.26 | 0.13 | 0.00 |
| C20:5 (n-3) | 0.47 | 0.55 | 0.00 | 0.43 | 0.00 | 0.45 | 0.46 | 0.00 | 0.14 | 0.00 |
| C22:5 (n-3) | 1.26 | 1.24 | 0.00 | 0.56 | 0.00 | 1.42 | 1.31 | 0.65 | 0.00 | 0.00 |
| Otros ⁴ | 0.00 | 3.64 | 0.00 | 10.22 | 0.00 | 0.57 | 0.00 | 2.29 | 3.17 | 0.00 |
| TOTAL n-3 | 2.39 | 6.08 | 0.00 | 11.69 | 0.00 | 3.09 | 2.44 | 3.21 | 3.45 | 0.00 |
| Total poliinsaturados | 42.75 | 40.63 | 39.20 | 43.30 | 39.78 | 43.71 | 41.73 | 40.60 | 41.02 | 41.01 |
| Poliinsaturados / total | 0.18 | 0.13 | 0.09 | 0.14 | 0.09 | 0.16 | 0.17 | 0.13 | 0.10 | 0.10 |

¹: C12:0, C15:0, C17:0; ²: C17:1, C20:1; ³: C18:3 (n-6), C20:2 (n-6), C20:3 (n-6), C22:4 (n-6), C22:5 (n-6), C22:6 (n-3); ⁴: C20:3 (n-3), C22:6 (n-3)

Tabla IV.16. Composición en ácidos grasos (g ácido graso / 100 g ácidos grasos totales) de la fracción de ácidos grasos libres de la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* en el pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). Las correspondientes desviaciones estándar se presentan en el Anexo II.

| Ácidos grasos | <i>biceps femoris</i> | | | | | <i>semimembranosus</i> | | | | |
|-------------------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| C14:0 | 0.86 | 1.04 | 1.24 | 0.64 | 0.47 | 1.20 | 1.32 | 1.52 | 0.53 | 0.50 |
| C16:0 | 24.62 | 24.23 | 27.30 | 20.31 | 19.73 | 24.28 | 22.70 | 25.58 | 19.74 | 19.21 |
| C18:0 | 10.54 | 12.71 | 15.18 | 14.04 | 12.20 | 16.03 | 15.23 | 15.68 | 12.43 | 11.97 |
| Otros ¹ | 0.15 | 0.79 | 1.35 | 0.63 | 0.64 | 0.09 | 0.66 | 1.68 | 0.68 | 0.72 |
| Total saturados | 36.16 | 38.78 | 45.07 | 35.61 | 33.05 | 41.59 | 39.92 | 44.44 | 33.38 | 32.40 |
| C16:1 | 0.55 | 1.44 | 1.31 | 1.29 | 1.02 | 2.25 | 0.57 | 1.75 | 1.11 | 1.14 |
| C18:1 | 25.30 | 26.91 | 28.40 | 29.16 | 20.64 | 30.61 | 25.82 | 32.28 | 26.21 | 21.04 |
| Otros ² | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.03 |
| Total monoinsaturados | 25.85 | 28.35 | 29.71 | 30.45 | 21.66 | 32.86 | 26.40 | 34.03 | 27.32 | 22.21 |
| C18:2 (n-6) | 27.20 | 23.32 | 17.69 | 23.38 | 29.89 | 18.11 | 22.26 | 13.01 | 24.76 | 29.89 |
| C20:4 (n -6) | 7.87 | 6.74 | 6.04 | 7.19 | 8.37 | 4.95 | 5.47 | 4.23 | 9.32 | 5.82 |
| Otros ³ | 0.70 | 0.28 | 0.00 | 1.11 | 3.13 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.98 | 2.96 |
| TOTAL n-6 | 35.77 | 30.34 | 23.73 | 31.68 | 41.39 | 23.06 | 27.73 | 17.24 | 36.06 | 38.66 |
| C18:3 (n-3) | 2.00 | 1.44 | 1.43 | 0.84 | 0.70 | 2.19 | 1.01 | 1.46 | 0.78 | 0.69 |
| C20:5 (n-3) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.75 | 0.41 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.30 | 0.41 |
| C22:5 (n-3) | 0.00 | 0.95 | 0.00 | 0.53 | 1.31 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.01 | 1.29 |
| Otros ⁴ | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.37 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.15 | 3.04 |
| TOTAL n-3 | 2.00 | 2.38 | 1.43 | 2.11 | 2.79 | 2.19 | 1.01 | 1.46 | 2.24 | 5.43 |
| Total poliinsaturados | 37.76 | 32.72 | 25.16 | 33.79 | 44.18 | 25.26 | 28.73 | 18.70 | 38.30 | 44.09 |
| Poliinsaturados / total | 0.38 | 0.33 | 0.25 | 0.34 | 0.45 | 0.25 | 0.30 | 0.19 | 0.39 | 0.45 |

¹: C12:0, C15:0, C17:0; ²: C17:1, C20:1; ³: C18:3 (n-6), C20:2 (n-6), C20:3 (n-6), C22:4 (n-6), ⁴: C20:3 (n-3), C22:6 (n-3)

IV.3.1.2. Evolución de las diferentes fracciones lipídicas de la grasa intramuscular durante el proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”

En la tabla IV.17 se presenta la evolución de las fracciones lipídicas extraídas y analizadas según el protocolo descrito en el apartado III.2.5.2.c, a lo largo del proceso de elaboración. Los resultados se expresan como porcentaje de cada fracción en la fracción total (g de ácidos grasos totales en la fracción A / 100 g de ácidos grasos totales en la fracción total); se entiende por fracción A las fracciones estudiadas de triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, fosfolípidos y ácidos grasos libres respectivamente. Se estima que la fracción total se corresponde con la suma de todos los ácidos grasos de todas estas fracciones estudiadas. La figura IV.13 muestra la evolución de los porcentajes relativos de estas fracciones a lo largo del proceso para ambos músculos.

Tabla IV.17. Evolución de las diferentes fracciones lipídicas de la grasa intramuscular en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5) a lo largo del proceso de elaboración (g de ácidos grasos en la fracción A / 100 g de ácidos grasos totales en la fracción total).

| FRACCIONES | <i>biceps femoris</i> | | | | |
|----------------------|------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| TRIGLICÉRIDOS | 74.85 | 83.44 | 91.09 | 88.82 | 76.29 |
| DIGLICÉRIDOS | 0.82 | 1.01 | 0.43 | 0.81 | 2.07 |
| MONOGLICÉRIDOS | 0.34 | 0.31 | 0.22 | 0.13 | 0.47 |
| FOSFOLÍPIDOS | 21.37 | 13.58 | 7.21 | 4.79 | 2.54 |
| ÁCIDOS GRASOS LIBRES | 2.62 | 1.65 | 1.04 | 5.45 | 18.64 |
| FRACCIONES | <i>semimembranosus</i> | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| TRIGLICÉRIDOS | 75.50 | 71.38 | 89.41 | 88.52 | 77.96 |
| DIGLICÉRIDOS | 1.28 | 0.53 | 0.79 | 0.64 | 1.94 |
| MONOGLICÉRIDOS | 0.40 | 0.52 | 0.27 | 0.15 | 0.18 |
| FOSFOLÍPIDOS | 19.79 | 25.52 | 8.29 | 5.06 | 2.28 |
| ÁCIDOS GRASOS LIBRES | 3.03 | 2.05 | 1.24 | 5.62 | 17.64 |

La fracción mayoritaria en la grasa intramuscular de pernil, tanto en el músculo *biceps femoris* como en el *semimembranosus* es la de triglicéridos (74.85 y 75.50 %, respectivamente). La fracción de fosfolípidos representa también una cantidad importante en ambos músculos, de forma que en la grasa intramuscular de pernil del músculo *biceps femoris* es de 21.37 % y en el músculo *semimembranosus* es de 19.79 %. Los ácidos grasos libres representan el 2.62 % en la grasa intramuscular del músculo *biceps femoris* de pernil y 3.03 % en el músculo *semimembranosus*. Las fracciones de monoglicéridos y diglicéridos son minoritarias en ambos músculos.

Tal y como refleja la figura IV.13 y los valores de la tabla IV.17, la fracción de triglicéridos apenas sufre variación en ambos músculos a lo largo del proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel” mientras que las cantidades de fosfolípidos y ácidos grasos libres varían de forma importante a lo largo del proceso. La cantidad de fosfolípidos disminuye drásticamente desde 21.37 y 19.79 % en pernil hasta 2.54 y 2.28 % en jamón curado “D.O. Teruel”, en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, respectivamente. Esta disminución supone una reducción del 88 % de los ácidos grasos que se analizan en esta fracción. Este comportamiento se atribuye a la gran inestabilidad de los fosfolípidos, que contienen niveles elevados de ácidos grasos insaturados, tal y como se ha comprobado en el análisis de la composición en ácidos grasos de esta fracción (aptdo. IV.3.1.1.b), que además son los principales afectados de las reacciones de hidrólisis previas a los procesos de oxidación (aptdo. IV.3.1.1.c), por lo que la degradación de los componentes de esta fracción debe desempeñar un papel importante en el desarrollo del aroma y sabor del jamón curado. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por otros autores para jamón serrano (Flores et al.; 1985).

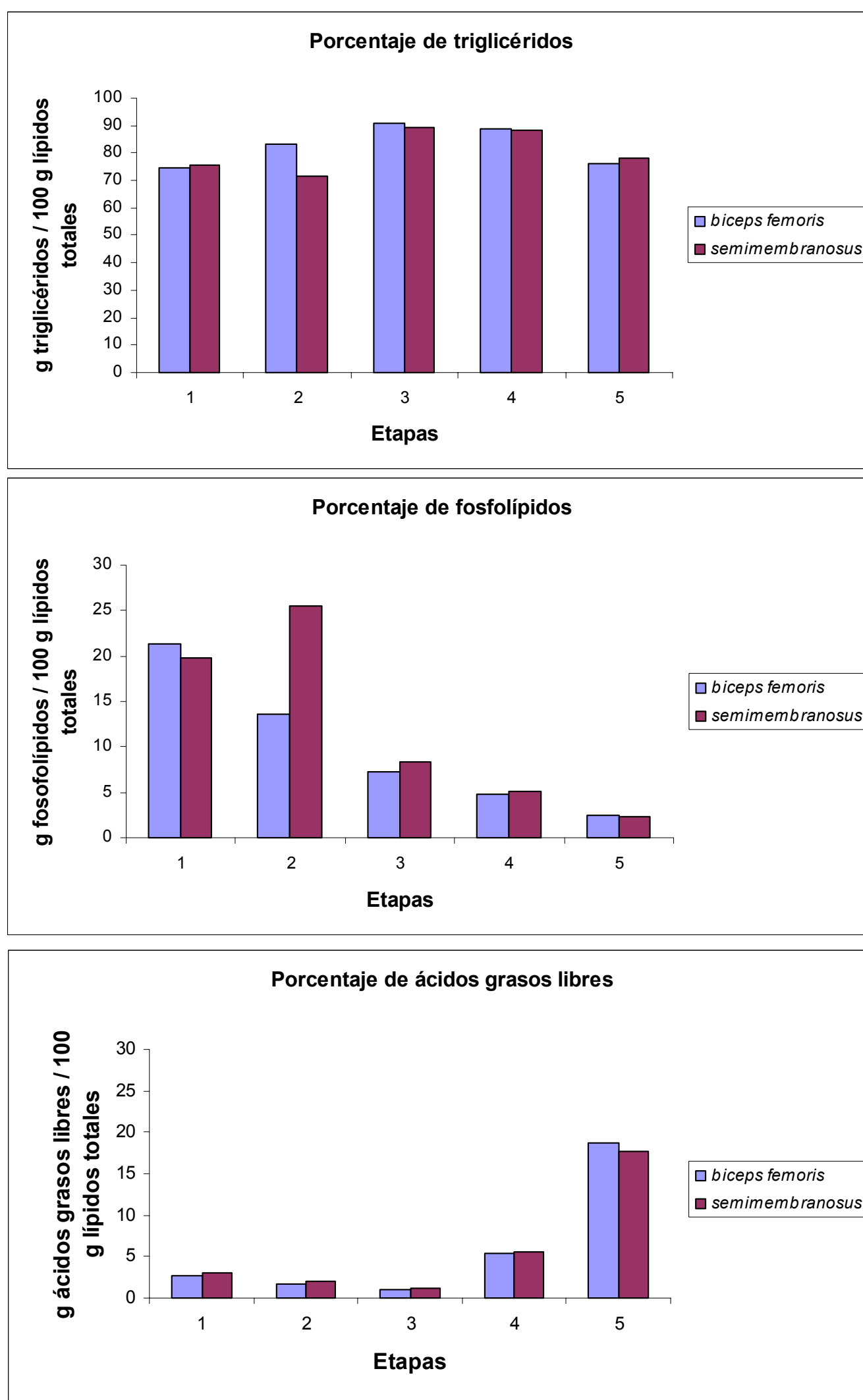


Figura IV.13. Evolución del porcentaje de triglicéridos, fosfolípidos y ácidos grasos libres en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* durante el proceso de elaboración del jamón "D.O. Teruel". 1: pernil, 2: pernil salado, 3: jamón postsalado, 4: jamón en maduración y 5: jamón curado "D.O. Teruel".

La cantidad de ácidos grasos libres no varía de forma importante durante las primeras etapas del proceso hasta el postsalado, mientras las piezas se encuentran a temperaturas bajas. Se produce un incremento considerable durante la etapa de maduración y hasta el final del proceso, donde se alcanzan valores para los ácidos grasos libres de 18.64 y 17.64 % en *biceps femoris* y *semimembranosus* respectivamente. Esto supone, con respecto al valor inicial de pernil, un aumento del 86 % en el músculo *biceps femoris* y del 82 % en el músculo *semimembranosus*. (Tabla IV.17). Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por otros autores (Buscailhon et al., 1994), que describen cambios similares en los lípidos intramusculares durante el procesado de jamón de francés.

Parece ser que existe una relación entre el aumento que sufren los ácidos grasos libres y la disminución producida en la fracción de fosfolípidos durante el proceso, tal y como se deduce del estudio previo de estas fracciones (aptdos. IV.3.1.1.b y IV.3.1.1.c). Estos resultados apoyarían la hipótesis de que los ácidos grasos libres que se generan durante el proceso proceden mayoritariamente de la hidrólisis de los fosfolípidos. Esta misma conclusión se obtiene de otros trabajos en los que se estudian los cambios en el contenido y composición en ácidos grasos en la carne durante diferentes procesos, como son el curado de jamones (Flores et al., 1987, Buscailhon et al., 1994) o la conservación en frío de carne fresca (Sharma et al., 1982).

De los resultados de este estudio también se deduce que la degradación de los fosfolípidos durante el proceso de curado se debe principalmente a la hidrólisis, seguida de procesos de oxidación (aptdo. IV.3.1.1.b). La oxidación directa de los ácidos grasos de los fosfolípidos, sin que haya una hidrólisis previa, es probablemente un fenómeno minoritario.

Este hecho responde a la mayor sensibilidad a la alteración que presentan los ácidos grasos insaturados, debido a la presencia en su estructura de dobles enlaces altamente susceptibles de ser oxidados. Los ácidos grasos insaturados se consideran precursores del aroma, ya que son susceptibles de oxidación química y enzimática, que generan una gran variedad de compuestos volátiles (Toldrá, 1998). Algunos autores atribuyen la intensa lipólisis a la actividad de lipasas básicas y

neutras, las cuales son lipoproteínas y lipasas hormona-sensitivas respectivamente (Countron-Gambotti, C. et al., 1999).

La figura IV.14 muestra la evolución de los ácidos grasos poliinsaturados en las diferentes fracciones estudiadas a lo largo del proceso. Se observa que efectivamente, a lo largo del proceso, el contenido en estos ácidos grasos se incrementa en la fracción de ácidos grasos libres y disminuye en la de fosfolípidos, mientras que en la de triglicéridos permanecen prácticamente inalterados. Según los resultados obtenidos, la fracción de fosfolípidos en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* sería la que contribuiría de forma más relevante al desarrollo del aroma típico del jamón curado “D.O. Teruel”.

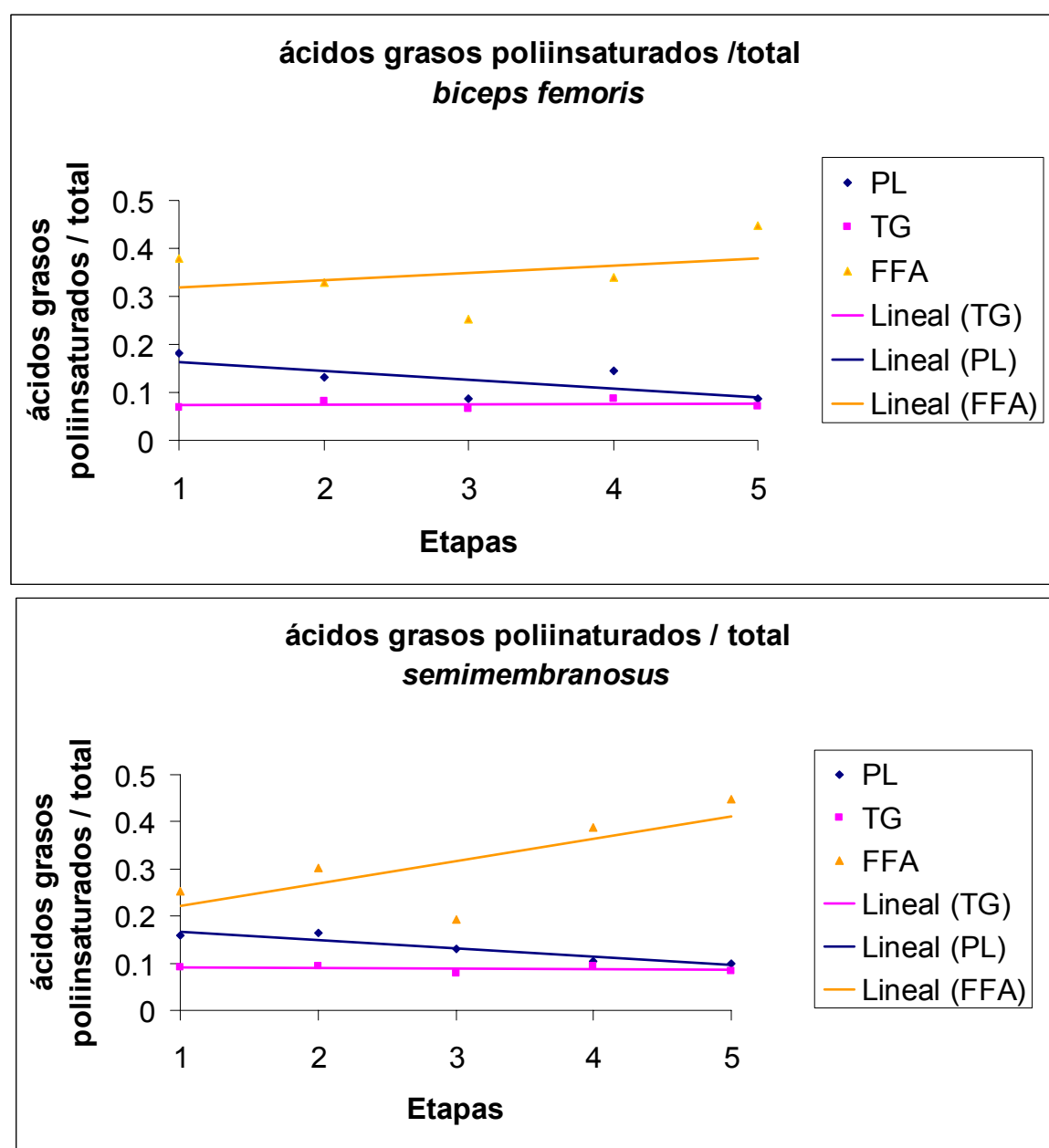


Figura IV.14. Evolución del cociente ácidos grasos poliinsaturados / total ácidos grasos en el músculo *biceps femoris* y en el músculo *semimembranosus* durante el proceso de elaboración del jamón “D.O. Teruel”. 1: pernil, 2: pernil salado, 3: jamón postsalado, 4: jamón en maduración y 5: jamón curado “D.O. Teruel”. PL: fosfolípidos, TG: triglicéridos, FFA: ácidos grasos libres.

IV.3.2. COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LA GRASA ASOCIADA AL MÚSCULO *BICEPS FEMORIS*

En la tabla IV.18 se muestra la composición en ácidos grasos de la fracción total de lípidos de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* o grasa subcutánea. La fracción total se extrae según el protocolo descrito en el apartado III.2.5.2.a; las distintas muestras se estudian por cromatografía de gases, y los resultados se expresan como porcentaje relativo de cada ácido graso con respecto al total de ácidos grasos presentes en esta fracción total.

Tabla IV.18. Composición en ácidos grasos (g ácido graso /100 g ácidos grasos totales) de la grasa asociada al músculos *biceps femoris* en pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). Las correspondientes desviaciones estándar se presentan en el Anexo II.

| FRACCIÓN TOTAL | Grasa asociada la músculo <i>biceps femoris</i> | | | | |
|-----------------------|---|-------|-------|-------|--------------|
| Ácidos grasos | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| C14:0 | 1.67 | 1.20 | 1.26 | 1.27 | 1.32 |
| C16:0 | 24.78 | 22.97 | 23.18 | 24.90 | 23.31 |
| C18:0 | 10.40 | 12.16 | 11.64 | 12.51 | 10.63 |
| Otros ¹ | 0.69 | 0.86 | 1.04 | 1.59 | 0.84 |
| Total saturados | 37.54 | 37.19 | 37.12 | 40.27 | 36.09 |
| C16:1 | 3.50 | 2.15 | 2.54 | 2.61 | 2.51 |
| C18:1 | 46.88 | 43.69 | 44.58 | 42.93 | 40.11 |
| Otros ² | 0.32 | 0.27 | 0.59 | 0.28 | 0.36 |
| Total monoinsaturados | 50.70 | 46.10 | 47.70 | 45.82 | 42.98 |
| C18:2 (n-6) | 8.69 | 12.56 | 11.60 | 10.68 | 14.85 |
| Otros ³ | 0.90 | 1.10 | 1.02 | 0.97 | 1.11 |
| TOTAL (n-6) | 9.58 | 13.65 | 12.62 | 11.65 | 15.97 |
| C18:3 (n-3) | 0.70 | 0.97 | 0.90 | 1.18 | 1.06 |
| C20:5 (n-3) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| C22:5 (n-3) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Otros ⁴ | 0.11 | 0.18 | 0.13 | 0.15 | 0.14 |
| TOTAL (n-3) | 0.81 | 1.15 | 1.03 | 1.33 | 1.20 |
| Total poliinsaturados | 10.39 | 14.80 | 13.65 | 12.98 | 17.17 |

¹: C12:0, C15:0, C17:0; ²: C17:1, C20:1; ³: C18:3 (n-6), C20:2 (n-6), C20:3 (n-6), C22:4 (n-6), ⁴: C20:3 (n-3), C22:6 (n-3).

La composición en ácidos grasos de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* en el pernil se caracteriza fundamentalmente por un alto porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados, en concreto de ácido oleico (46.88 %), si se compara con la grasa intramuscular del pernil donde el porcentaje de ácido oleico representa un 41.45 % (aptdo. IV.3.1, tabla IV.13). Y en paralelo, la cantidad de ácidos grasos saturados y poliinsaturados disminuye con respecto a la estudiada en la grasa intramuscular (aptdo. IV.3.1). El porcentaje relativo de ácidos grasos poliinsaturados es de 10.39 % en la grasa asociada, mientras que en la grasa intramuscular es de 15.54 %. Los ácidos grasos saturados suponen el 37.54 % en la grasa asociada frente a 35.6 % de la grasa intramuscular. Estos resultados están de acuerdo con otros publicados para tejido adiposo subcutáneo de perniles utilizados para la elaboración de jamones curados (Countron-Gambotti, et al., 1999).

Si se estudia la evolución de los diferentes ácidos grasos a lo largo del proceso, la composición en ácidos grasos de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* del jamón curado “D.O. Teruel” refleja una alta estabilidad de los ácidos grasos saturados; se observa una importante disminución de la fracción de ácidos grasos monoinsaturados (desde 50.70 % en el pernil hasta 42.98 % en el producto final), donde el ácido oleico es el que sufre una mayor degradación (de 46.88 % en pernil a 40.11 % en jamón curado); esta disminución va acompañada por un incremento casi paralelo de la fracción de ácidos grasos poliinsaturados (desde 10.39 % en el pernil hasta 17.17 % en el producto final).

IV.3.3. ÍNDICES DE CALIDAD DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA

En este apartado se estudian algunos índices de calidad que orientan sobre el grado de alteración de los componentes de la fracción lipídica. Se estudia la evolución del índice de acidez, del índice de peróxidos y del índice de yodo de la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, así como de la grasa asociada al músculo *biceps femoris*. El índice de acidez es una medida indirecta de la liberación de ácidos grasos y por lo tanto de la lipólisis. El índice de peróxidos muestra la evolución del proceso oxidativo durante la elaboración del jamón; los peróxidos tienen una naturaleza transitoria y son productos primarios, intermediarios en la formación posterior de compuestos hidroxilo y carbonilo. El índice de yodo es un estimador del nivel de insaturación de los lípidos, ya que mide la cantidad de dobles enlaces presentes en los ácidos grasos.

Para la determinación de los distintos índices de calidad, se utiliza la grasa intramuscular obtenida por el método Soxhlet a partir de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* (aptdo. III.2.5.1 de Material y Métodos) que permite trabajar con mayores cantidades de muestra, necesarias para la posterior realización de los análisis que se describen en el presente apartado. La grasa asociada al músculo *biceps femoris* o grasa subcutánea, se obtiene según el método descrito en el apartado III.2.5.3 de este trabajo.

IV.3.3.1. Índices de acidez, de peróxidos y de yodo en la grasa intramuscular

IV.3.3.1.a. Índice de acidez

En la tabla IV.19 y la figura IV.15 se presenta el grado de acidez (expresado como porcentaje de ácido oleico) para la grasa intramuscular, de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, durante el proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”.

Tabla IV.19. Valores del grado de acidez (g ácido oleico / 100 g grasa) para la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valor medio; S: desviación estándar). (X: valor medio, S: desviación estándar).

| Índice de Acidez (g ácido oleico / 100 g grasa) | | | | |
|--|-----------------------|------|------------------------|------|
| | <i>biceps femoris</i> | | <i>semimembranosus</i> | |
| Muestra | X | S | X | S |
| 1 | 1.69 | 0.12 | 1.84 | 0.60 |
| 2 | 4.66 | 0.04 | 2.05 | 0.06 |
| 3 | 4.71 | 0.03 | 5.23 | 0.15 |
| 4 | 4.95 | 0.12 | 12.01 | 0.23 |
| 5 | 6.13 | 0.17 | 14.70 | 0.48 |

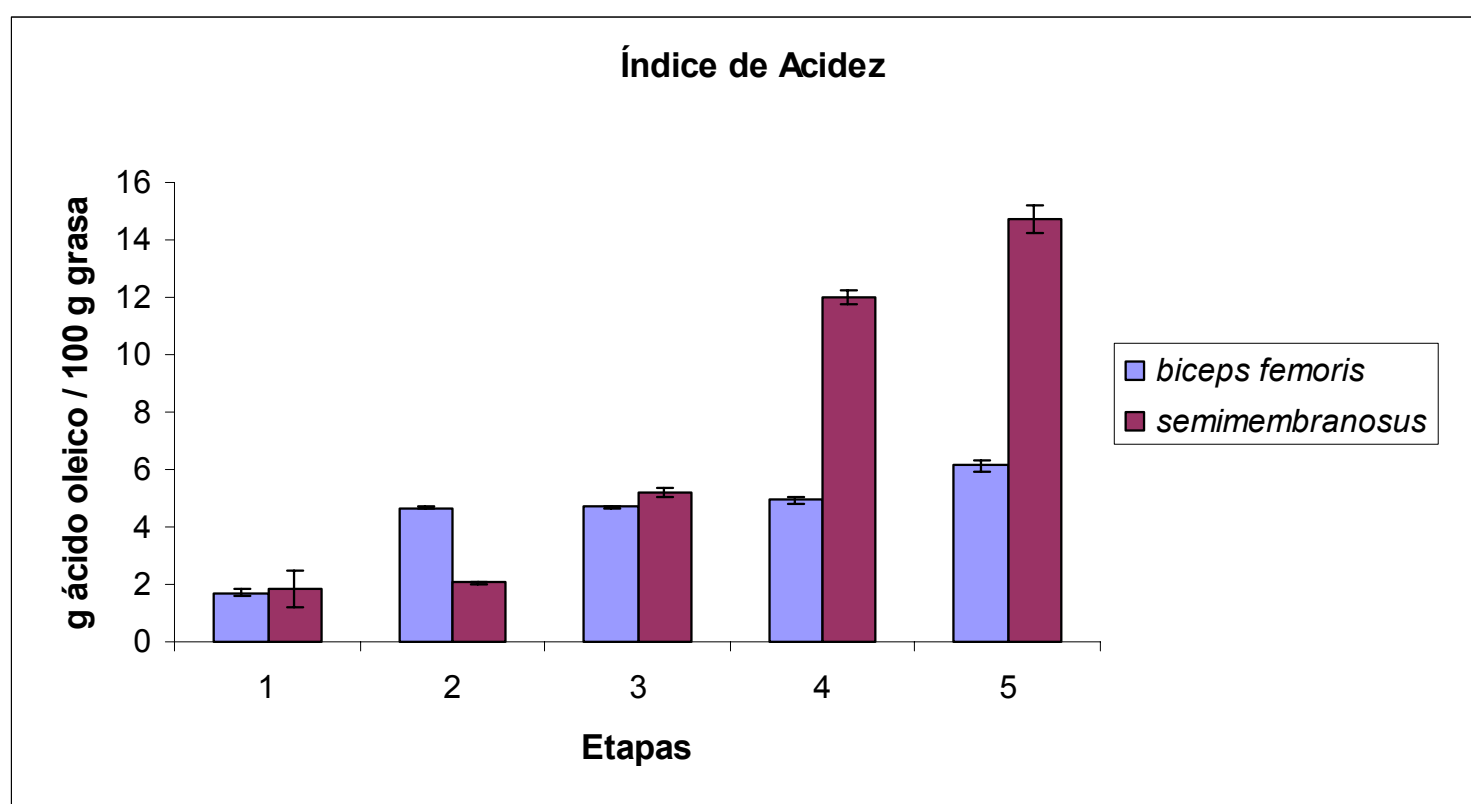


Figura IV.15. Valores medios de acidez (g ácido oleico / 100 g grasa) para la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* en el proceso de elaboración de jamón “D.O. Teruel”. 1: pernil, 2: pernil salado, 3: jamón postsalado, 4: jamón en maduración y 5: jamón curado “D.O. Teruel”.

Al principio del proceso de elaboración en el pernil hay un bajo contenido de ácidos grasos libres en la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*.

El grado de acidez para la grasa intramuscular del músculo *biceps femoris* evoluciona gradualmente a lo largo del proceso desde 1.69 g ácido oleico / 100 g grasa en pernil hasta 6.13 g ácido oleico / 100 g grasa, en jamón curado “D.O. Teruel”. Los valores de acidez final coinciden con los analizados en jamones Ibéricos por otros autores (Antequera et al., 1992). En la grasa intramuscular del músculo *semimembranosus* se produce también una evolución gradual del grado de acidez, aunque la acidez que presenta este músculo al final del proceso de curado es bastante mayor que para el músculo *biceps femoris* (1.84 g ácido oleico / 100 g grasa en pernil hasta 14.7 g ácido oleico / 100 g grasa en jamón curado “D.O. Teruel”). Estos valores son más altos que los encontrados para este mismo músculo por otros autores en jamones ibéricos; Antequera et al. (1992) encontraron valores de 10.75 g ácido oleico / 100 g grasa para grasa intramuscular de jamón Ibérico. Las diferencias encontradas entre músculos se pueden atribuir a una mayor actividad lipolítica en el músculo *semimembranosus*, posiblemente originada por microorganismos con sistemas enzimáticos lipolíticos (levaduras, mohos, y micrococci) tal como han descrito Rodríguez et al. (1994) y Cava et al. (1999) para jamón Ibérico.

En el músculo *semimembranosus*, aunque en el pernil salado ya se observa un aumento de la acidez con respecto al pernil, las reacciones lipolíticas se desarrollan más intensamente en la última etapa de la maduración, donde se produce un aumento desde 5.23 g ácido oleico / 100 g grasa en jamón en postsalado hasta 14.7 g ácido oleico / 100 g grasa en jamón curado “D.O. Teruel”.

IV.3.3.1.b. Índice de peróxidos

En la tabla IV.20 y la figura IV.16 se presenta el índice de peróxidos (expresado como meq O₂ activo / kg grasa) para la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*.

Tabla IV.20. Valores del índice de peróxidos (meq O₂ activo / kg grasa) para la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valor medio; S: desviación estándar).

| Índice de Peróxidos (meq O ₂ activo / kg grasa) | | | | |
|---|-----------------------|------|------------------------|------|
| | <i>biceps femoris</i> | | <i>semimembranosus</i> | |
| Muestra | X | S | X | S |
| 1 | 4.29 | 0.51 | 3.42 | 0.20 |
| 2 | 7.93 | 0.28 | 11.17 | 0.91 |
| 3 | 27.34 | 0.98 | 30.27 | 0.45 |
| 4 | 15.21 | 1.05 | 19.12 | 1.05 |
| 5 | 11.62 | 0.38 | 17.03 | 3.36 |

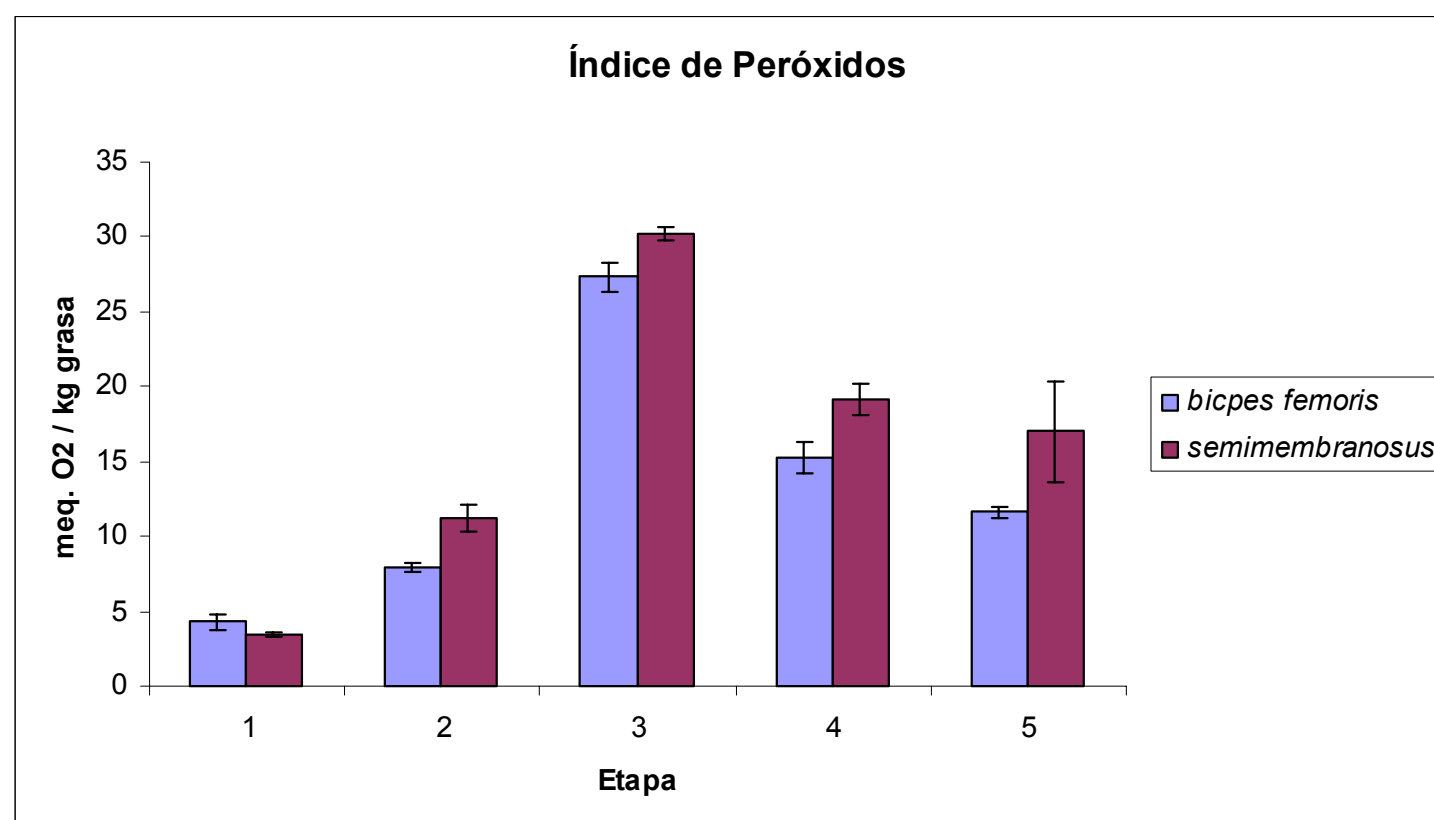


Figura IV.16. Valores medios del índice de peróxidos (meq O₂ activo/ kg muestra) para la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* en pernil (1), pernil salado (2) y jamón “D.O. Teruel” (5).

En ambos músculos el índice de peróxidos aumenta gradualmente hasta el final del postsalado. En el músculo *biceps femoris* se obtienen valores del índice de peróxidos de 4.29 meq O₂ activo/ kg grasa intramuscular en pernil, y de 7.93 meq O₂ activo/ kg grasa intramuscular en pernil salado (Tabla IV.20 y Fig. IV.16). En el músculo *semimembranosus* los valores medios del índice de peróxidos son de 3.42 meq O₂ activo/ kg grasa intramuscular en pernil, y de 11.17 meq O₂ activo/ kg grasa intramuscular en pernil salado (figura IV.16). Estos resultados son del mismo orden que los obtenidos por otros autores para el índice de peróxidos de la grasa intramuscular de carne de cerdo y pernil salado (Flores et al., 1985; Antequera et al., 1993; Hertzman et al., 1988).

En el pernil salado se produce un incremento del índice de peróxidos con respecto al pernil del 46 % para la grasa intramuscular del músculo *biceps femoris* (figura IV.16) y del 69 % para la grasa intramuscular del músculo *semimembranosus* (figura IV.16). Si se contrastan estos valores de índice de peróxidos con los valores tan bajos obtenidos en ambos músculos para el índice de acidez en pernil salado (tabla IV.19), se podría concluir que el efecto lipolítico sería mayor que el que aparentemente reflejan los resultados del índice de acidez; debido a que parte de los ácidos grasos que se van generando en la etapa de salado comienzan rápidamente a autooxidarse dando lugar a los correspondientes peróxidos.

Según algunos autores (Antequera et al., 1992) se produce un pico máximo en el contenido en peróxidos justo antes de la etapa de maduración, y después, durante esta etapa, se produce una importante destrucción de los peróxidos simultáneamente con la generación de una gran variedad de compuestos volátiles esenciales en el aroma típico del jamón curado. Los peróxidos son productos primarios de naturaleza transitoria, intermediarios en la formación de compuestos hidroxilo y carbonilo; entre ellos los más abundantes son el hexanal y el nonanal, productos secundarios más importantes en la oxidación del ácido oleico y linoleico, respectivamente (Gray, 1978; Antequera et al., 1992).

En el jamón curado “D.O. Teruel” los valores finales del índice de peróxidos son de 11.62 y 17.03 meq O₂ activo/ kg grasa en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* respectivamente. El valor encontrado en el músculo *semimembranosus* es relativamente bajo si se compara con el obtenido en este mismo músculo para jamón Ibérico encontrado por otros autores (27.57 meq O₂ activo/ kg grasa Antequera et al., 1992), y que podría orientar sobre las evidentes diferencias finales en las percepciones aromáticas, muy intensa en jamón Ibérico, y seguramente más suave en jamón “D.O. Teruel”.

IV.3.3.1.c. Índice de yodo

En la tabla IV.21 y la figura IV.17 se muestran los valores del índice de yodo para la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* en pernil, pernil salado y jamón curado “D.O. Teruel”.

Tabla IV.21. Valores del índice de yodo (g I₂ / 100 g grasa) para la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valor medio; S: desviación estándar).

| Índice de Yodo (g I ₂ / 100 g grasa) | | | | |
|--|-----------------------|------|------------------------|------|
| | <i>biceps femoris</i> | | <i>semimembranosus</i> | |
| Muestra | X | S | X | S |
| 1 | 56.15 | 2.18 | 57.29 | 0.63 |
| 2 | 56.44 | 6.43 | 49.70 | 0.90 |
| 5 | 67.89 | 3.86 | 72.42 | 3.27 |

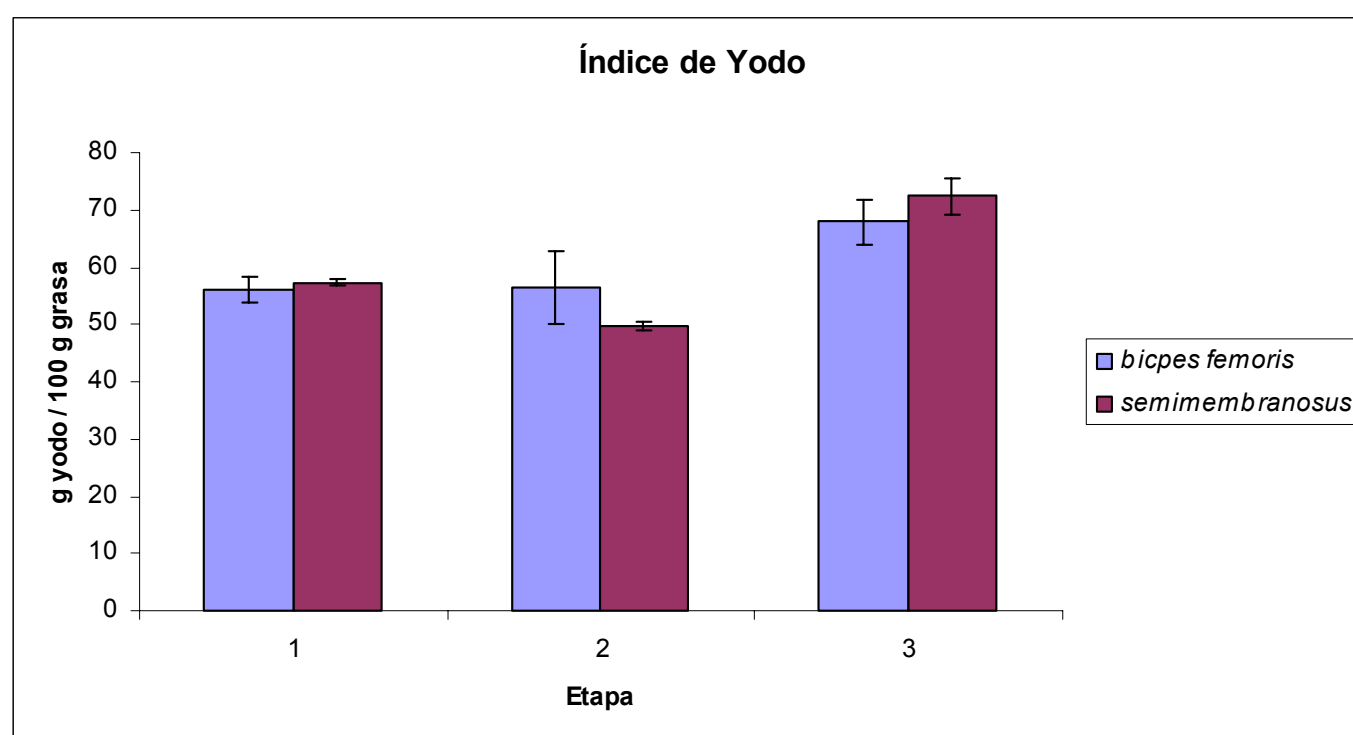


Figura IV.17. Valores del índice de yodo ($\text{g I}_2 / 100 \text{ g grasa}$) para la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* en pernil (1), pernil salado (2) y jamón “D.O. Teruel” (3).

En la grasa intramuscular del músculo *biceps femoris* se obtienen valores del índice de yodo de 56.15 y 56.44 $\text{g I}_2 / 100 \text{ g grasa}$ para el pernil y pernil salado, respectivamente. Estos valores son del mismo orden que los obtenidos por otros autores para la grasa intramuscular de perniles, y se corresponden con un porcentaje de ácidos grasos insaturados mayor del 50 % (Flores et al., 1988). Efectivamente, en el análisis de la composición en ácidos grasos de los componentes de la grasa intramuscular del músculo *biceps femoris* en pernil (tabla IV.13), el porcentaje de ácidos grasos insaturados encontrado supone 61.5 g ácidos grasos / 100 g ácidos grasos totales.

Al final del proceso, el índice de yodo en la grasa intramuscular del jamón curado “D.O. Teruel” para los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* es de 67.89 y 72.42 $\text{g I}_2 / 100 \text{ g grasa}$ respectivamente.

IV.3.3.2. Índice de acidez, de peróxidos y de yodo en la grasa asociada al músculo *biceps femoris*

En la tabla IV.22 se presentan los valores de grado de acidez, peróxidos y yodo de la grasa subcutánea o grasa asociada al músculo *biceps femoris*.

Tabla IV.22. Valores del índice de acidez (g ácido oleico / 100 g grasa), índice de peróxidos (meq O₂ activo/ kg grasa) e índice de yodo (g I₂ activo/ 100 g grasa), obtenidos para la grasa asociada al músculo *biceps femoris* de perril (1), perril salado (2), jamón postsalado (3), y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (X: valor medio; S: desviación estándar).

| Grasa asociada | Grado de Acidez | | Índice de Peróxidos | | Índice de Yodo | |
|----------------|------------------------------|------|--------------------------------------|------|--------------------------------|------|
| | g ácido oleico / 100 g grasa | | meq O ₂ activo / kg grasa | | g I ₂ / 100 g grasa | |
| Etapa | X | S | X | S | X | S |
| 1 | 0.46 | 0.05 | 6.23 | 0.17 | 66.04 | 7.90 |
| 2 | 0.31 | 0.02 | 18.66 | 6.33 | 70.08 | 3.47 |
| 3 | 0.65 | 0.03 | – | – | – | – |
| 5 | 13.44 | 0.58 | 24.49 | 4.51 | 68.64 | 2.35 |

Los valores de grado de acidez en la grasa asociada, durante las primeras etapas del proceso, son muy bajos, de forma que se puede decir que el incremento de ácidos grasos libres de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* en el proceso de elaboración se produce fundamentalmente en la etapa de maduración. Estos valores son 0.46, 0.31, 0.65 g ácido oleico / 100 g grasa en perril, perril salado y jamón postsalado, mientras que al final del proceso el grado de acidez en jamón curado “D.O. Teruel” es de 13.44 g ácido oleico / 100 g grasa (tabla IV.22). Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores (Balderas et al., 1993) en trabajos en los que se estudian procesos de elaboración de jamón curado con distintos tiempos de salazón.

El aumento del grado de acidez durante el proceso de fabricación (de 0.46 % en pernil hasta 13.44 % en el jamón elaborado) se atribuye a la intensa lipólisis que tiene lugar debido a la actividad enzimática lipolítica, con la consiguiente formación de ácidos grasos libres (Antequera et al., 1994; Motilva et al., 1993). La lipólisis se encuentra favorecida por las condiciones de temperatura y humedad en que se desarrolla todo el proceso (Balderas et al., 1993).

Los valores de índice de peróxidos obtenidos para pernil y pernil salado son respectivamente 6.23 y 18.66 meq O₂ activo/ kg grasa (Tabla IV.23). Esto refleja la presencia de una mayor cantidad de ácidos grasos libres desde el inicio del proceso, lo que favorecería una mayor formación posterior de peróxidos si se compara con la grasa intramuscular (tabla IV.20). Efectivamente, al final del proceso el índice de peróxidos es superior (24.49 meq O₂ activo/ kg grasa) al encontrado para la grasa intramuscular.

Según los resultados obtenidos por cromatografía de gases de la evolución en ácidos grasos de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* (aptdo. IV.3.1.1), se podría decir que el ácido oleico sería el principal ácido graso oxidado en esta grasa.

Con los datos disponibles para el índice de yodo en la grasa asociada, se puede decir que el nivel de saturación, estimado a través del índice de yodo, no varía sensiblemente entre la materia prima empleada y el producto final. Y además, el valor del índice de yodo en la grasa asociada al músculo *biceps femoris* (68.64 g I₂ / 100 g grasa) coincide con el correspondiente al de la grasa intramuscular del músculo *biceps femoris* (67.89 g I₂ / 100 g grasa).

IV.4. CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL

La calidad de la carne y de los productos cárnicos está íntimamente relacionada con su microestructura. El estudio microestructural del jamón curado proporciona una valiosa información de cara a profundizar en el conocimiento de los fenómenos que tienen lugar durante su procesado. Además, en el caso concreto de los alimentos protegidos por Denominación de Origen, el conocimiento de la microestructura puede ser útil para su caracterización, así como para definir y optimizar los procesos.

Por otra parte, en otros apartados del presente trabajo se ha estudiado algunos componentes químicos que desempeñan un papel fundamental en la microestructura del músculo esquelético del pernil y del jamón; así por ejemplo, las proteínas miofibrilares configuran las unidades estructurales del sarcómero elemental, los fosfolípidos estructuran las membranas celulares, la grasa subcutánea se estructura en los adipocitos, etc.

Las modificaciones estructurales del tejido muscular durante la elaboración de productos cárnicos, como el jamón curado, están muy poco estudiadas. En este apartado se estudia la evolución de la microestructura durante el proceso de elaboración de jamón curado “D.O. Teruel”, mediante el uso de diversas técnicas microscópicas complementarias (Cryo-SEM, SEM, LM, TEM).

Como se verá en los resultados y discusión presentados en este capítulo, las modificaciones observadas en la microestructura a lo largo del proceso, coinciden plenamente con los cambios químicos estudiados en los apartados anteriores de este trabajo, tanto en lo referente a los componentes proteicos y lipídicos, como a las distintas actividades enzimáticas estudiadas, así como en lo que respecta a la evolución de los contenidos en humedad y NaCl de las distintas muestras estudiadas.

IV.4.1. CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (Cryo-SEM y SEM)

La Microscopía Electrónica de Barrido ha sido utilizada por numerosos investigadores en los últimos años para el estudio de la estructura de gran variedad de alimentos, así como para el estudio de las modificaciones microestructurales que se producen durante diversos procesos industriales (Pascual-Albero et al., 1998; Pérez-Munuera et al., 1999a; Álvarez-Parrilla et al., 1997).

En este apartado se estudia por Microscopía Electrónica de Barrido a Bajas Temperaturas (Cryo-SEM) y Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) la evolución de la estructura del tejido muscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* durante el proceso de elaboración de jamón “D.O. Teruel”.

IV.4.1.a. Cryo-Microscopía Electrónica de Barrido

En la preparación de muestras para su observación por Cryo-SEM las muestras se fijan a bajas temperaturas (- 210 °C) de forma que es posible estabilizar la estructura de las células en el material de forma muy cercana a su estado natural.

Se han estudiado por Cryo-SEM secciones transversales y longitudinales de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, además del tejido adiposo o grasa asociada al músculo *biceps femoris*, del pernil, pernil salado, jamón postsalado, y jamón curado “D.O. Teruel”. La obtención de las distintas secciones se realiza según se explica en el apartado III.2.6.1 de Material y Métodos.

Las figuras IV.18 a IV.25 muestran diversas secciones de tejido muscular del pernil utilizado como materia prima en el proceso de elaboración. No se han observado diferencias estructurales entre el tejido muscular del músculo *biceps femoris* y el músculo *semimembranosus* en el pernil.

La figura IV.18 es una sección transversal del músculo *semimembranosus* del pernil en la que se observan diversos haces musculares típicos de la estructura del tejido muscular de la carne. Se aprecia la presencia de tejido conjuntivo perimisial o perimisio que separa los haces de fibras, y una pequeña veta de grasa intramuscular, cuyos adipocitos se sitúan alienados en el espacio entre haces de fibras musculares. En las figuras IV.19 y IV.20 se observan con más detalle las células musculares, que en el pernil están bastante intactas. Son células de aproximadamente 100 μm de diámetro, rodeadas de una membrana o sarcolema. En la figura IV.20 se observa cómo estas células aparecen interconectadas por el tejido conjuntivo endomisial o endomisio, estructura reticular constituida fundamentalmente por colágeno, que mantiene perfectamente adheridas las fibras musculares.

En la figura IV.21 se ve con detalle la unión entre cuatro células musculares del pernil y destaca la íntima conexión entre la membrana o sarcolema y el paquete miofibrilar, así como la alta integridad de las miofibrillas (1-2 μm de diámetro) en el interior de la célula, que se observan conectadas entre sí. Las miofibrillas son los elementos contráctiles del músculo y su estructura es responsable del carácter estriado del mismo. Las conexiones intermiofibrilares que se observan son de naturaleza proteica, semejantes a las descritas por algunos investigadores en otros tipos de carne (Silva et al., 1993; Taylor et al., 1995), como constituyentes de los denominados costámeros: componentes de una red citoesquelética que enlaza las miofibrillas entre sí y éstas con el sarcolema, a la altura de los discos Z.

En la figuras IV.22 y IV.23 se muestran fibras musculares de músculo *semimembranosus* de pernil en sección longitudinal, donde se observa mejor la integridad que mantiene el paquete miofibrilar, con las proteínas de los costámeros prácticamente intactas, de forma que el interior celular aparece como una malla continua íntimamente unida a la membrana o sarcolema. En los espacios intercelulares todavía se pueden detectar algunos restos de tejido conjuntivo endomisial, aunque la mayoría de los espacios intercelulares aparecen vacíos por la degradación que se ha producido durante el almacenamiento. Como se ha indicado en el apartado III.1 de Material y Métodos, los análisis microestructurales se

realizan a partir de perniles que han estado entre tres y cuatro días en almacenamiento refrigerado a 4°C; ésto explica la degradación inicial que se observa en el tejido conjuntivo, como también se ha comprobado para otros tipos de carne, como la carne de conejo (Pérez-Munuera et al., 1999b; Sotelo 2000 y Sotelo et al., 2004). En los primeros 3-4 días postmortem en almacenamiento refrigerado ya se produce el 65-80 % de los cambios que conducen a la tenderización de la carne. Según algunos autores (Ouali et al., 1987; Bremmer & Hallet, 1985), el efecto de diversas enzimas (colagenasas o catepsinas), sobre la estructura del músculo postmortem, es determinante en el proceso de tenderización por degradación del tejido conjuntivo y de los cambios texturales de la carne postmortem.

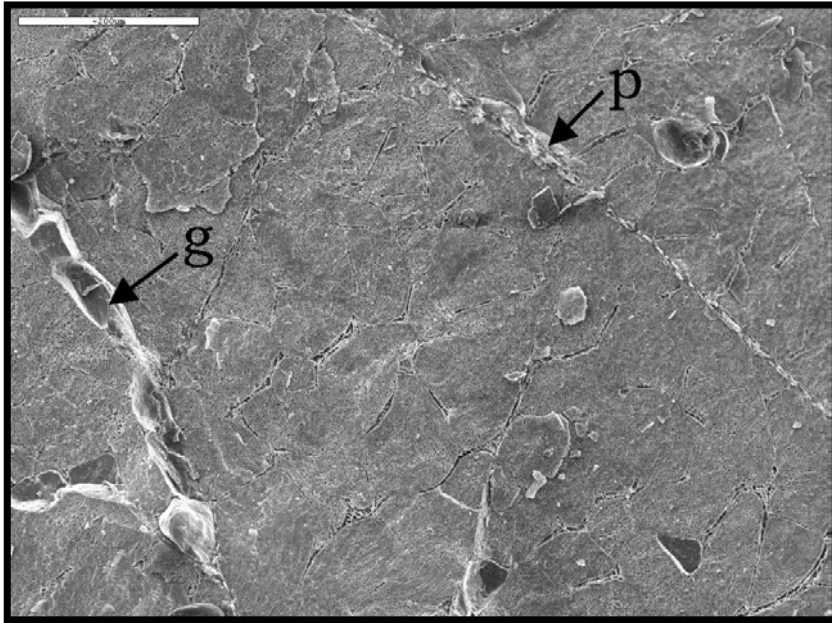


Figura IV.18. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de perril. Grasa intramuscular (g); perimysio (p) (Cryo-SEM).

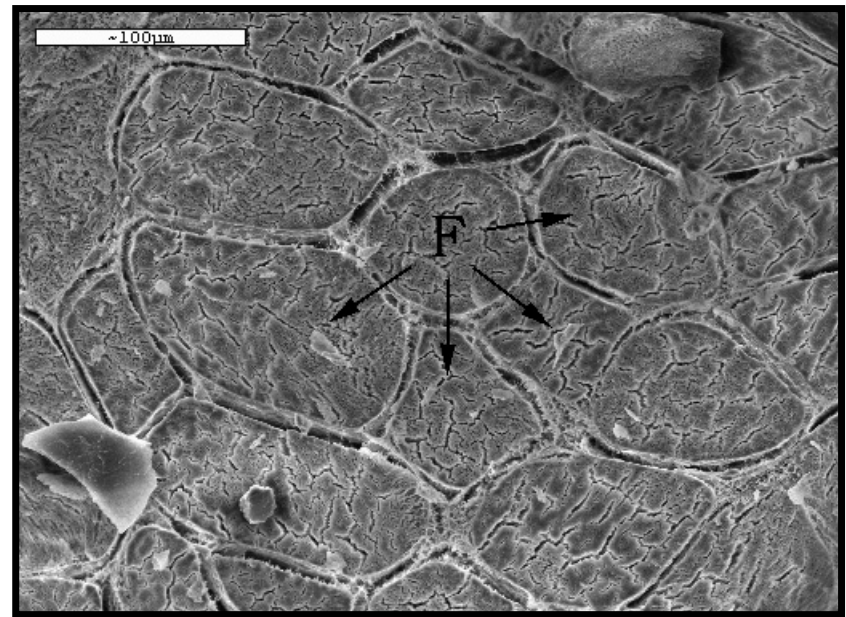


Figura IV.19. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de perril. Fibras musculares (F). (Cryo-SEM).

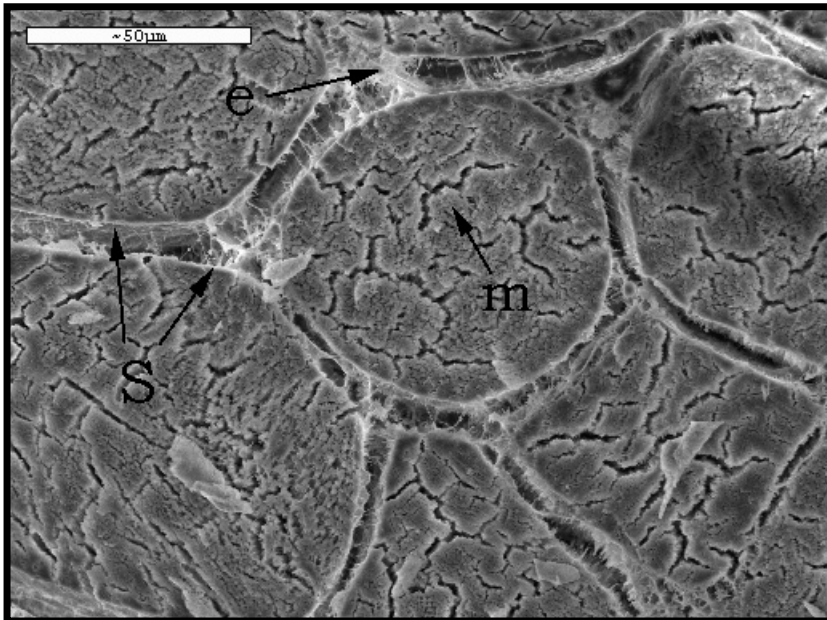


Figura IV.20. Sección transversal. Fibras musculares de perril. Miofibrillas (m); Sarcolema (S); endomysio (e) (Cryo-SEM).

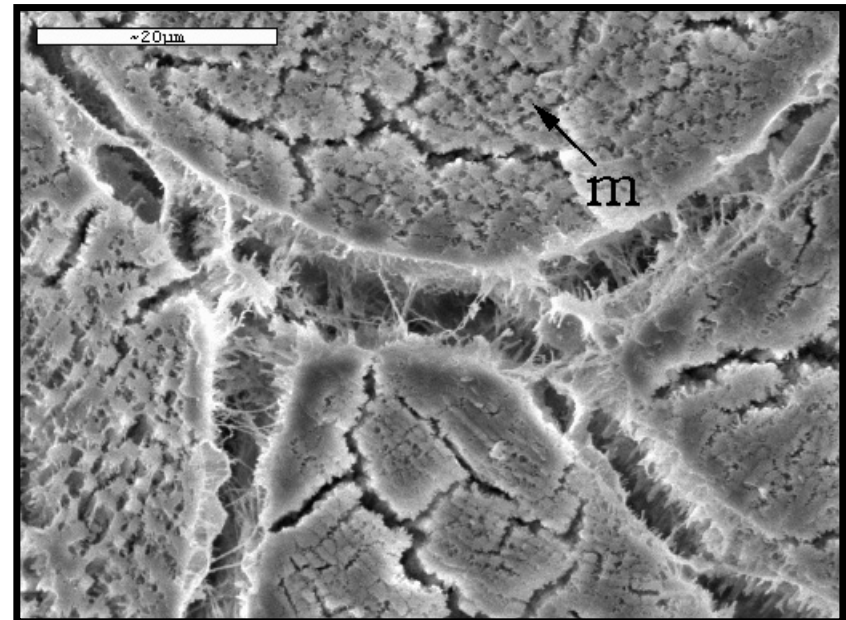


Figura IV.21. Sección transversal de perril Miofibrillas (m) (Cryo-SEM).

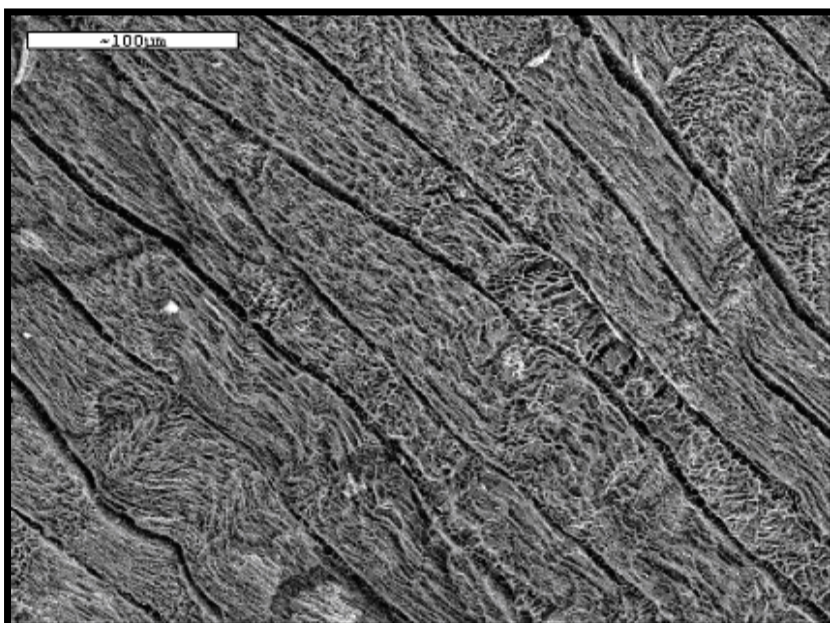


Figura IV.22. Sección longitudinal del músculo *semimembranosus* de perril (Cryo-SEM).

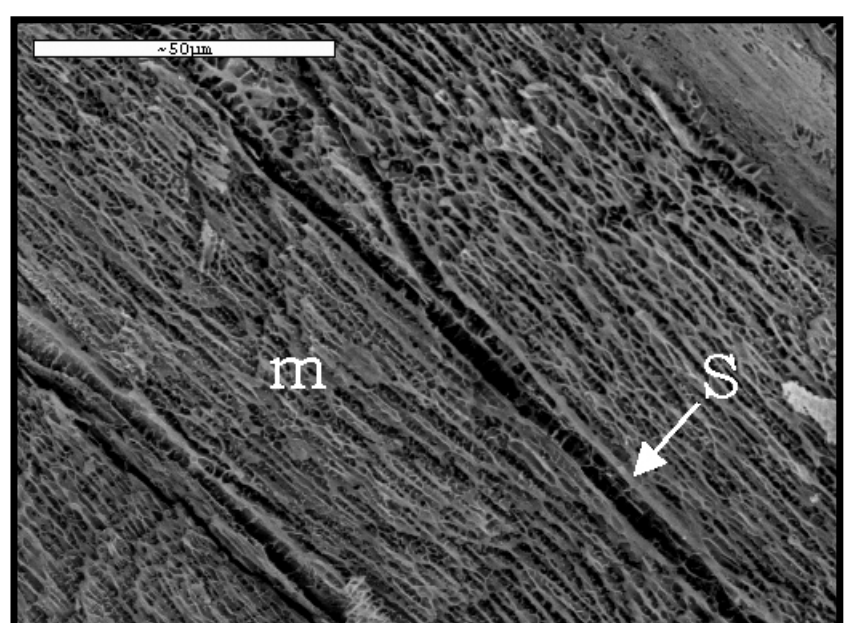


Figura IV.23. Sección longitudinal del músculo *biceps femoris* de perril. Miofibrillas (m); Sarcolema (S) (Cryo-SEM).

Las figuras IV.24 y IV.25 muestran el tejido adiposo intramuscular que, tanto en el músculo *biceps femoris* como en el *semimembranosus*, aparece irregularmente distribuido en forma de vetas situadas en los espacios entre haces musculares, junto al tejido conjuntivo perimisial. Algunas de estas vetas son microscópicas, constituídas solamente por células adiposas más o menos redondeadas, rodeadas por membrana y repletas de grasa en estado amorfo (Fig. IV.25).

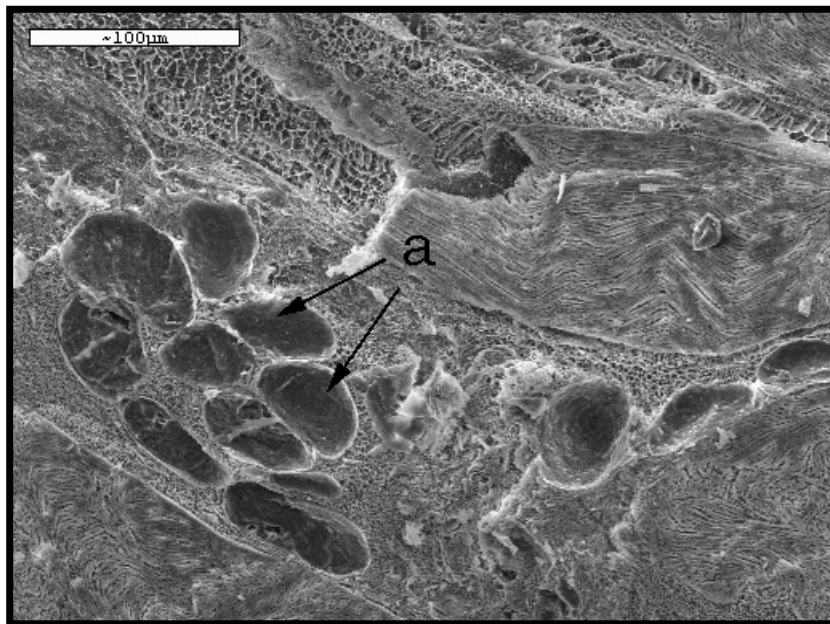


Figura IV.24. Veta de grasa intramuscular. Adipocitos (a) (Cryo-SEM).

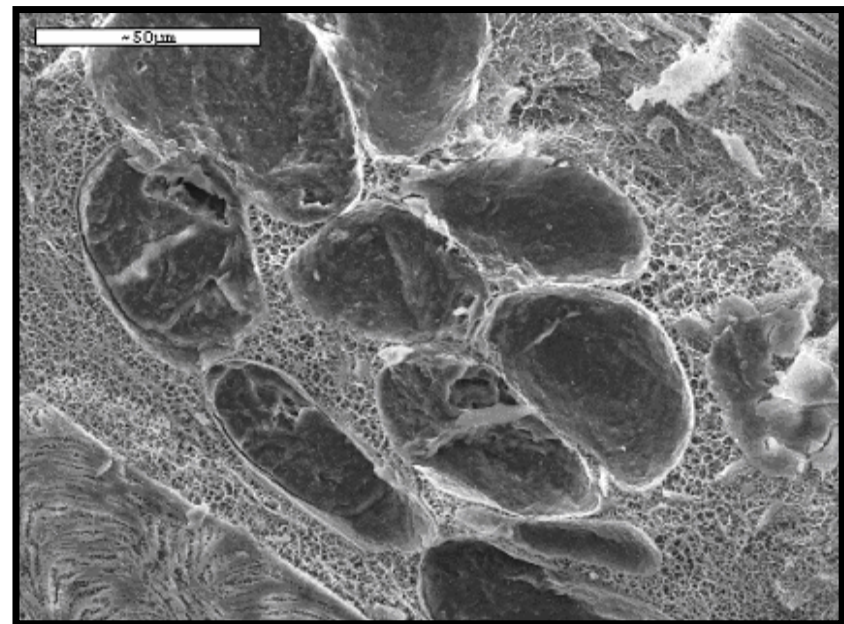


Figura IV.25. Detalle de una veta de grasa intramuscular (Cryo-SEM).

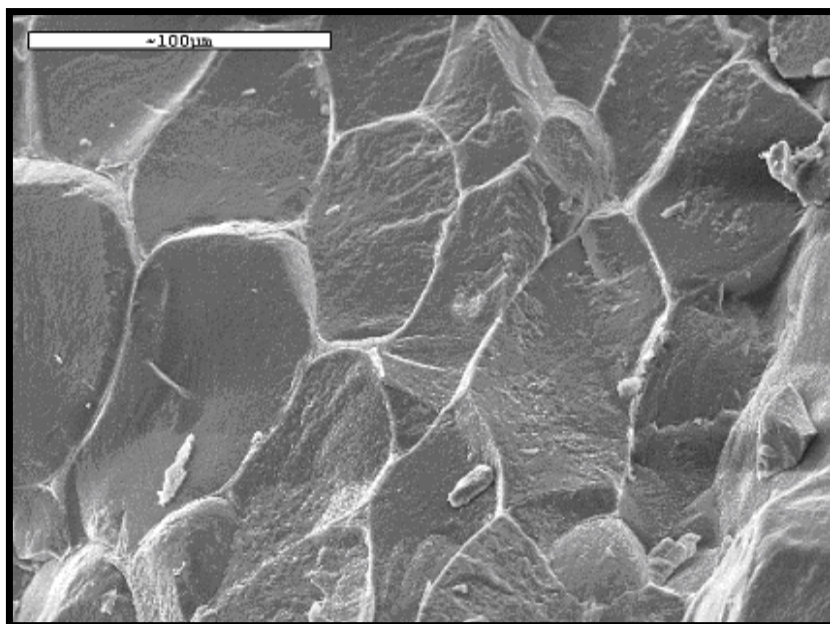


Figura IV.26. Sección transversal de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* de pernil, constituido por adipocitos (Cryo-SEM).

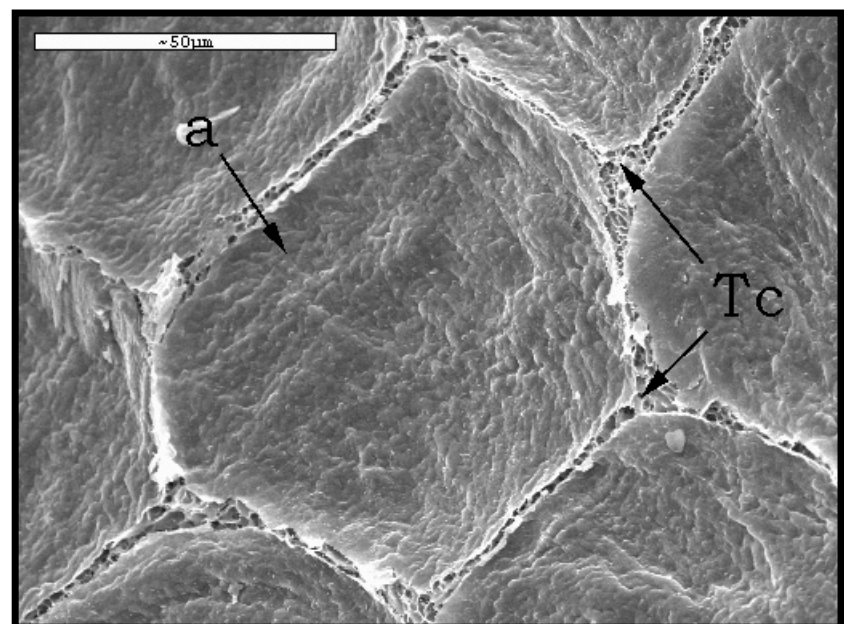


Figura IV.27. Sección transversal de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* de pernil. Detalle de un adipocito (a); tejido conjuntivo (Tc) (Cryo-SEM).

En la figura IV.26 y IV.27 se observa la estructura del tocino subcutáneo o grasa asociada al músculo *biceps femoris* de pernil. Esta capa de tejido adiposo hace de interfase y actúa como una verdadera barrera entre la masa muscular que constituye el *biceps femoris* y la superficie del jamón. En la figura IV.27 se aprecian los adipocitos íntimamente unidos, con espacios intercelulares muy limitados. Presentan una forma ligeramente alargada, con el diámetro menor de tamaño bastante uniforme de aproximadamente 50 μm , mientras que el diámetro mayor presenta más variabilidad. Cuando se observan las células a más aumentos se aprecia la existencia de lo que podría ser tejido conjuntivo intercelular. El interior de los adipocitos se encuentra repleto de pequeños glóbulos de grasa.

Las figuras IV.28 a IV.31 muestran diversas secciones obtenidas a partir del músculo *biceps femoris* del pernil salado; en las figuras IV.28 y IV.29 se observa una importante degradación de las proteínas de los costámeros, especialmente aquellos que unen las miofibrillas con el sarcolema. En la figura IV.30 se aprecia con detalle la unión entre algunas células; en los espacios intercelulares (donde se situaba el tejido conjuntivo endomisial) se observa ahora la presencia de unas estructuras que se denominan artefactos eutécticos, generados como consecuencia de la sublimación del agua y de la correspondiente agregación de los solutos presentes. La acumulación de solutos en los espacios intercelulares después de la etapa de salado se puede atribuir a la penetración de las sales de curado, así como al importante efecto de solubilización y deshidratación que produce la sal en el tejido muscular. Cuanto mayor es la acumulación de estos solutos mayor es la densidad de estos artefactos eutécticos.

En la figura IV.31 se muestra una sección longitudinal del músculo *biceps femoris* de pernil salado y se observa que después del salado también se encuentran afectadas en cierto grado las conexiones intermiofibrilares con aparición de grietas microscópicas en el interior de las células. También se observa en esta figura acumulación de solutos entre el paquete miofibrilar y el sarcolema, que antes estaban íntimamente unidos a través de las proteínas de los costámeros.

Estos resultados están en concordancia con los encontrados por Sayas-Barberá et al. (1990) en los que se indica que las sales de curado producen una solubilización de las proteínas miofibrilares, y generan como consecuencia una dispersión de los miofilamentos; además, la desnaturalización de las proteínas facilitaría la actuación de las proteasas activas durante el proceso de curado, produciendo alteraciones laterales a nivel de los discos Z.

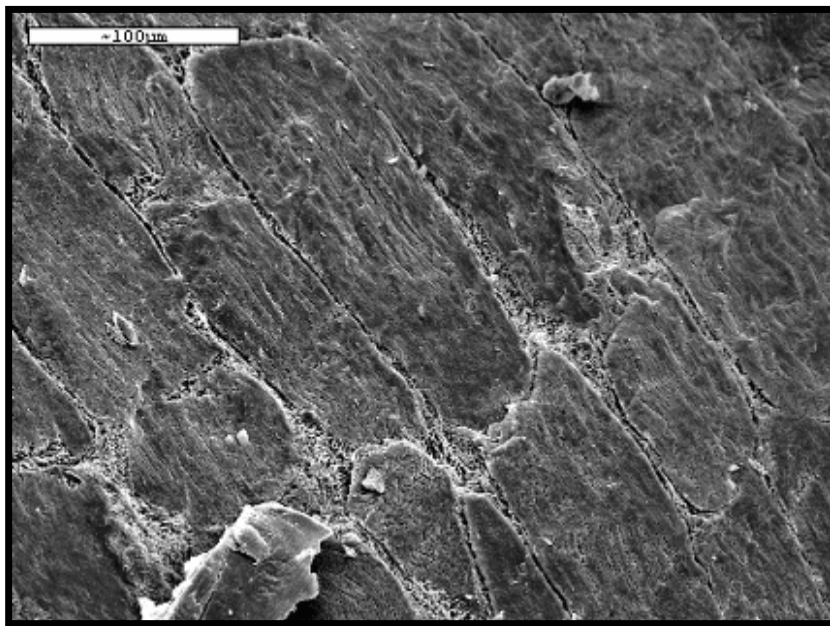


Figura IV.28. Sección longitudinal del músculo *biceps femoris* de pernil salado (Cryo-SEM).

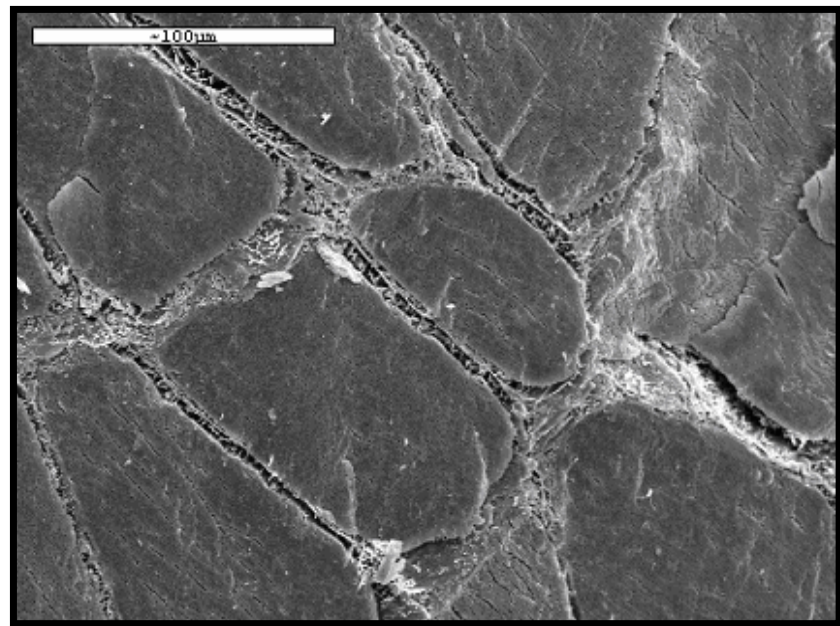


Figura IV.29. Sección transversal del músculo *biceps femoris* de pernil salado (Cryo-SEM).

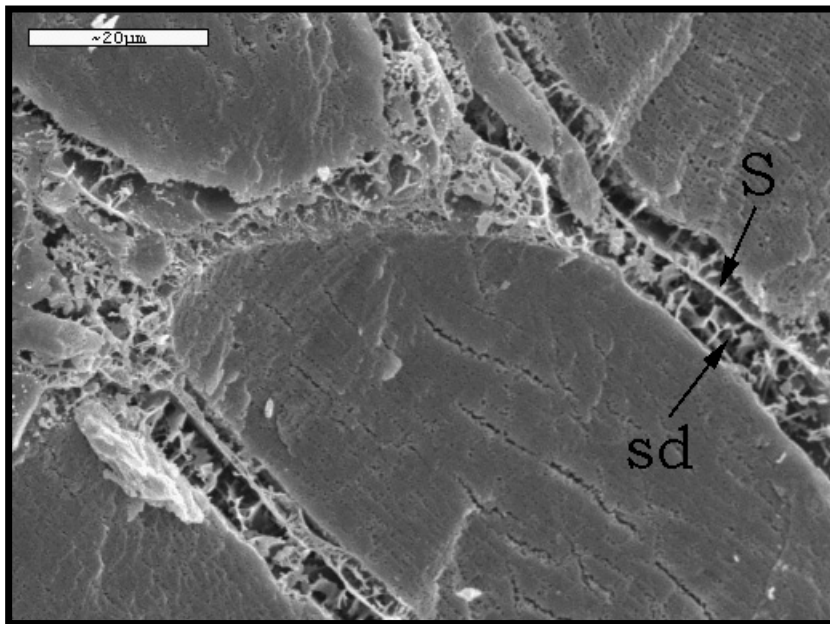


Figura IV.30. Sección transversal del músculo *biceps femoris* de pernil salado. Sarcolema (S); solutos disueltos (sd) (Cryo-SEM).

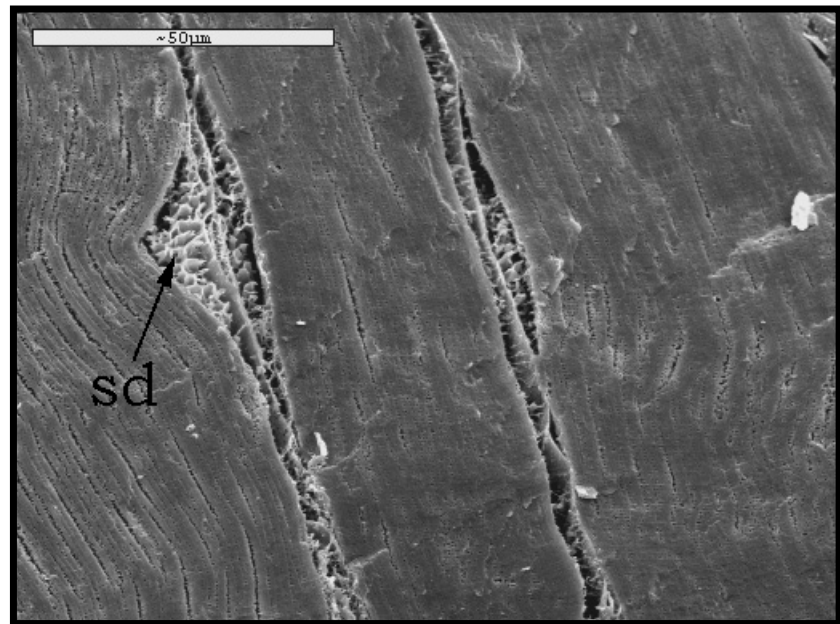


Figura IV.31. Sección longitudinal del músculo *biceps femoris* de pernil salado. Solutos disueltos (sd) (Cryo-SEM).

En las figuras IV.32 a IV.35 se presentan diferentes secciones obtenidas a partir del músculo *semimembranosus* de pernil salado. En las figuras IV.32 y IV.33 se observan dos secciones transversales en las que se puede apreciar que el salado ejerce, sobre la estructura muscular del músculo *semimembranosus*, un efecto más drástico que el observado en el músculo *biceps femoris*. Las células no aparecen tan definidas como en el *biceps femoris*, debido a una degradación más importante de las membranas celulares, y en los espacios intercelulares se aprecia una mayor densidad de artefacto eutéctico, lo que revela una mayor acumulación de solutos. El efecto de la sal sobre la estructura celular es más importante ya que durante el salado este músculo está en contacto directo con las sales de curado.

La figura IV.34 muestra una sección transversal, en la que se aprecia con más detalle la importante degradación sufrida por la estructura celular, especialmente por las membranas, de forma que las células se muestran desdibujadas. Los espacios intercelulares no están muy bien definidos, tal y como se aprecia en una sección longitudinal (Fig. IV.35, compárese con Fig. IV.31), donde se puede observar también la alteración estructural en el paquete miofibrilar así como la degradación del sarcolema.

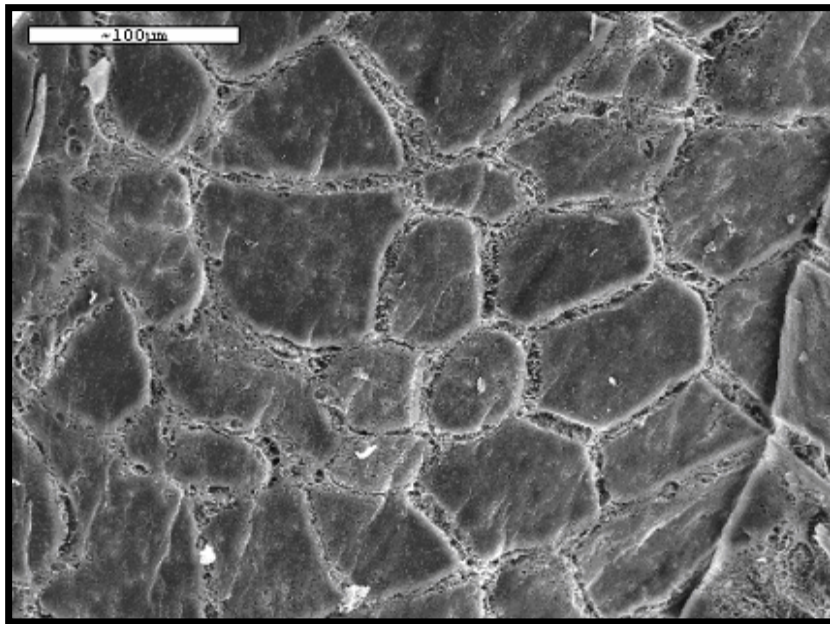


Figura IV.32 Sección transversal del músculo *semimembranosus* de pernil salado (Cryo-SEM).

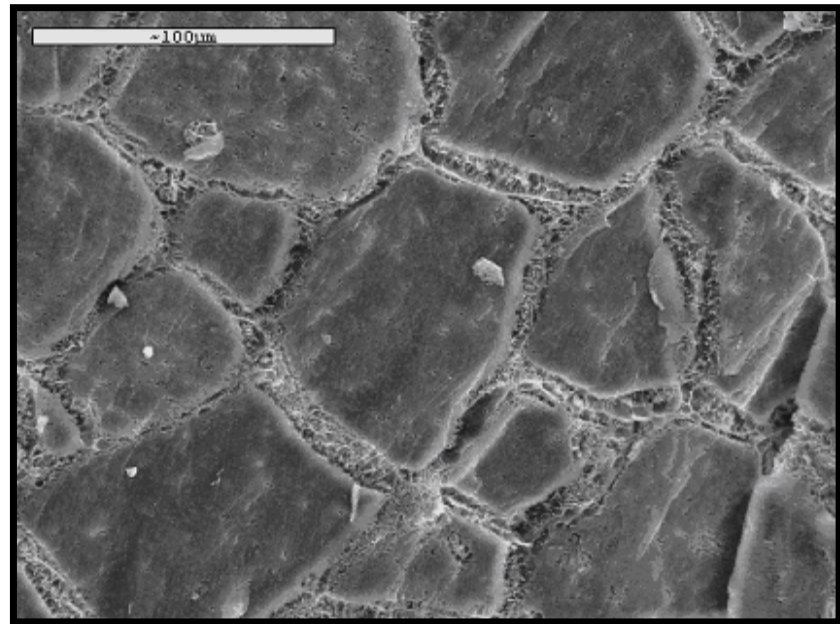


Figura IV.33. Sección transversal del músculo *semimembranosus* de pernil salado (Cryo-SEM).

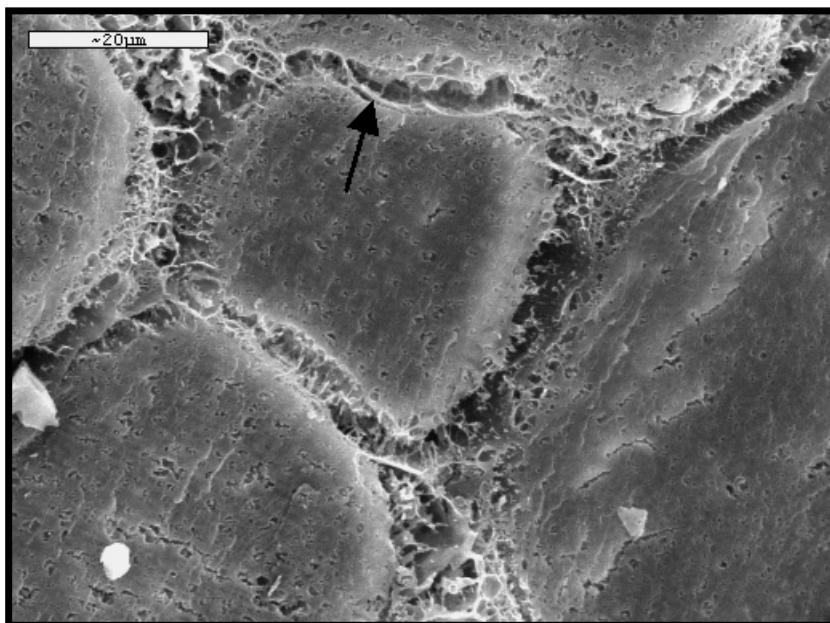


Figura IV.34. Sección transversal del músculo *semimembranosus* de pernil salado. Restos de sarcolema (flecha) (Cryo-SEM).

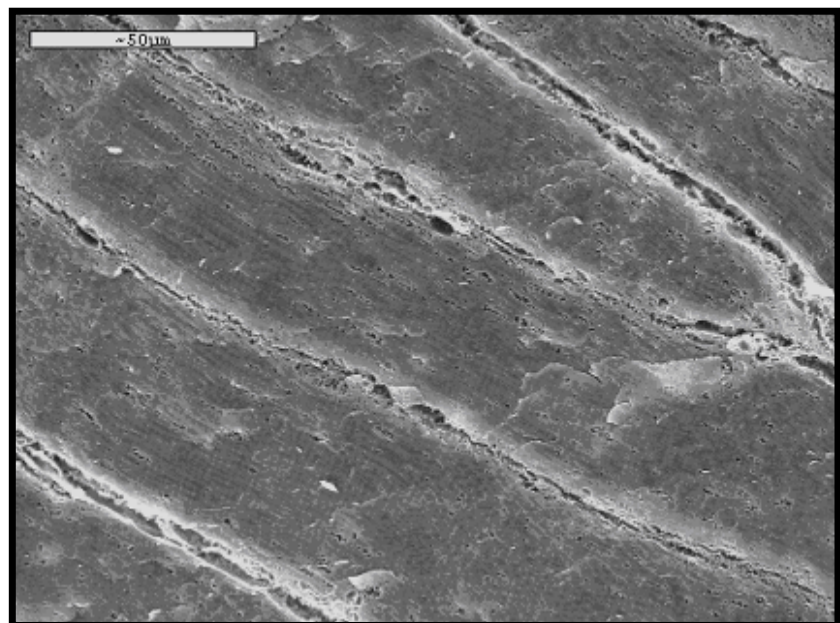


Figura IV.35. Sección longitudinal del músculo *semimembranosus* de pernil salado (Cryo-SEM).

En la figura IV.36 se observa, en sección transversal, una veta de grasa intramuscular en el pernil salado del músculo *biceps femoris*. El salado produce una importante deformación de las células adiposas, que se muestran con formas irregulares, probablemente debido al efecto de solubilización que la sal produce también sobre las membranas de estas células.

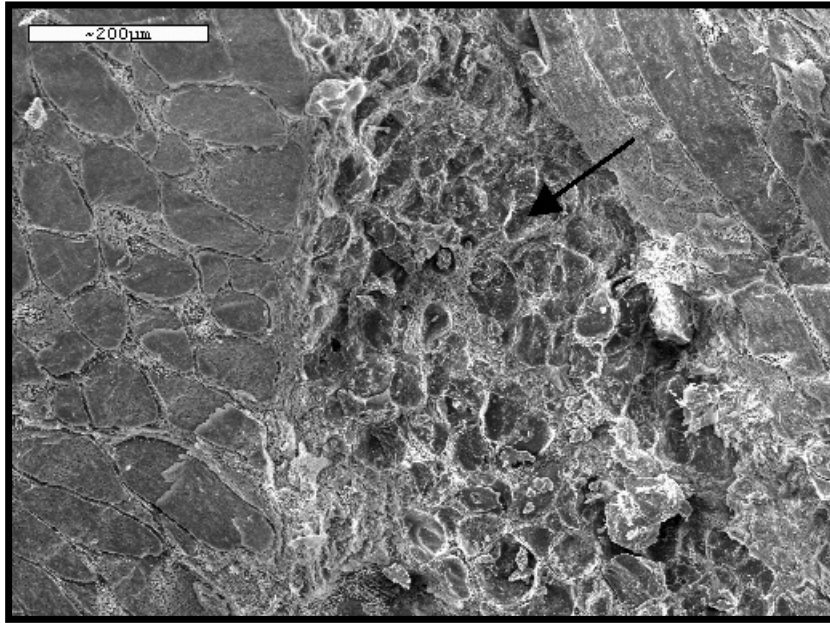


Figura. IV.36 Sección transversal del músculo *biceps femoris* de pernil salado. Veta de grasa intramuscular (flecha) (Cryo-SEM).

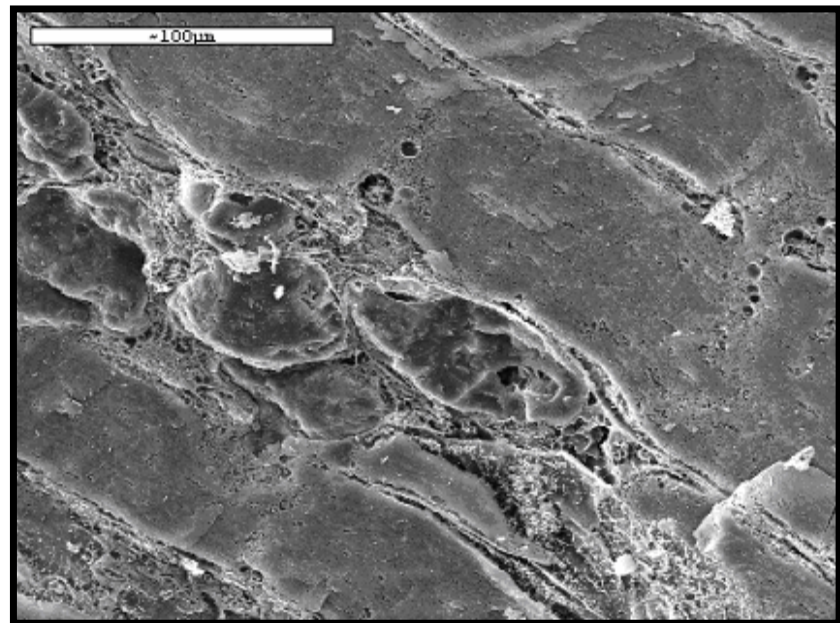


Figura IV.37. Sección longitudinal del músculo *semimembranosus* de pernil salado. Detalle de veta de grasa intramuscular. (Cryo-SEM).

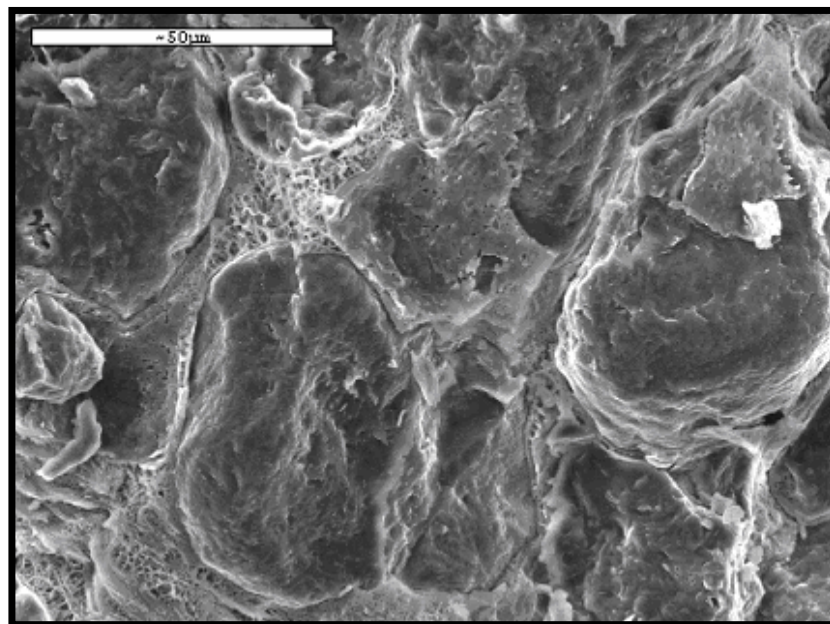


Figura IV.38. Sección transversal del músculo *biceps femoris* de pernil salado (Cryo-SEM).

La figura IV.37 muestra con más detalle una veta de grasa intramuscular, en este caso en el músculo *semimembranosus* de pernil salado, donde se observa una importante afectación de las membranas de los adipocitos, así como huecos en su interior provocados por la salida de grasa de estas células hacia el exterior. La grasa liberada desde los adipocitos (Fig. IV.38) produce por coalescencia pequeñas áreas de grasa libre que se sitúa ahora en los espacios intercelulares. En el pernil (Fig. IV.16) los adipocitos se observaban atrapados en el tejido conjuntivo conservando su individualidad; pero después de la etapa de salado, la afectación, tanto de las proteínas que constituyen este tejido conjuntivo, como de las propias membranas de los adipocitos, produce una agregación de los mismos y la salida de

grasa hacia el exterior de las células adiposas. La infiltración de esta grasa en el tejido muscular a lo largo del proceso favorece reacciones químicas y enzimáticas a partir de las cuales se generarán componentes que serán responsables de importantes propiedades sensoriales típicas del jamón curado.

Las figuras IV.39 y IV.40 muestran la estructura de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* de pernil salado; la disolución salina penetra en este tejido adiposo subcutáneo, se infiltra entre las células y ocupa los espacios intercelulares. En la figura IV.39 se observa, entre las células adiposas, grandes áreas ocupadas por lo que hemos definido como artefacto eutéctico, que indica la presencia de solutos, y que en este caso se podría afirmar que provienen de la disolución salina. La infiltración de la disolución salina entre las células del tejido adiposo hace que éste no presente una estructura tan compacta como la observada en la grasa asociada al músculo *biceps femoris* de pernil (Fig. IV.27), donde los espacios intercelulares eran mucho más limitados.

En la figura IV.40 se observa con detalle algunos adipocitos desde los que ha salido la grasa hacia los espacios intercelulares.

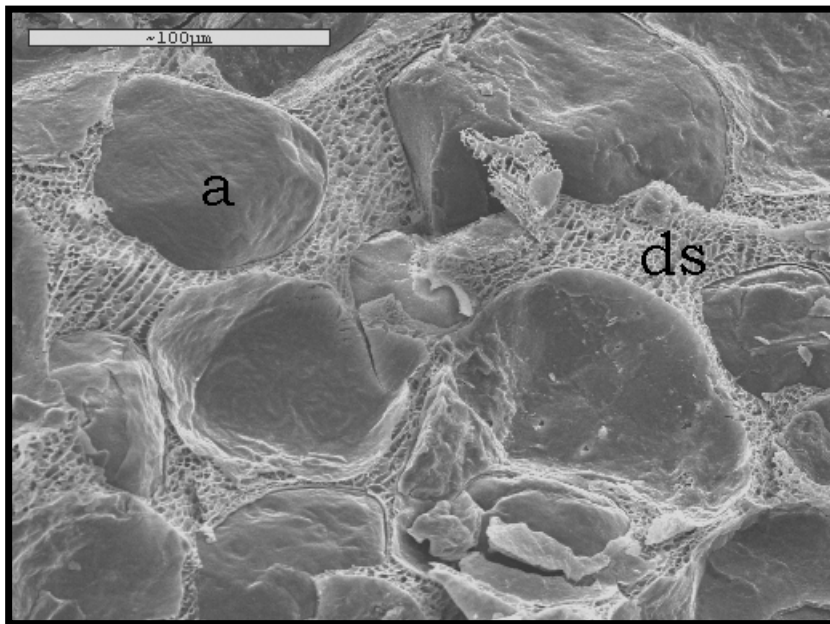


Figura IV.39. Sección transversal de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* del pernil salado. Adipocitos (a); disolución salina (ds) (Cryo-SEM).

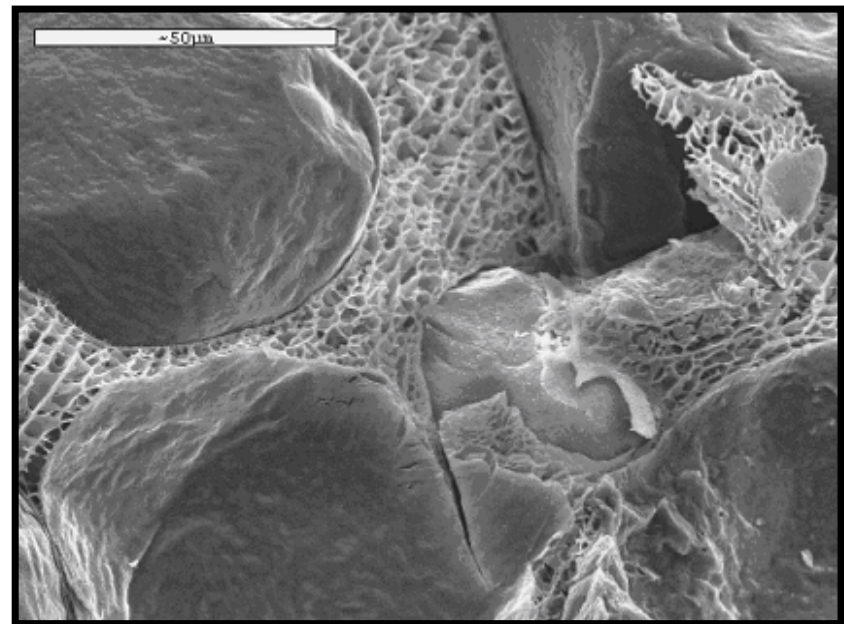


Figura IV.40. Sección transversal de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* de pernil salado (Cryo-SEM).

Durante los dos meses posteriores a la etapa de salado se produce un reparto de la sal en las piezas (asentamiento), es la etapa de postsalado. La figura IV.41 muestra una panorámica del músculo *biceps femoris* de jamón postsalado, y las figuras IV.42 y IV.43 muestran con más detalle un corte transversal del tejido muscular en el que se destaca la importante degradación, especialmente a nivel de la membrana o sarcolema, con restos de membrana celular y de exudados ocupando los espacios intercelulares. La degradación de las membranas favorece la interacción entre el contenido de células vecinas, dando un efecto de continuidad en algunas zonas.

En la figura IV.44 se observa una importante área de grasa, libre que en la muestra original se encontraba infiltrada en el tejido muscular de músculo *biceps femoris* del jamón en postsalado. Esta grasa proviene de los adipocitos que se situaban en las vetas de grasa intramuscular cuya degradación se inicia en el salado y es ya muy importante después de la etapa de postsalado.

La figura IV.45 muestra una visión panorámica de una sección transversal de músculo *semimembranosus* de jamón postsalado. Si se compara con el músculo *biceps femoris* (Fig. IV.41) el tejido está más compactado. La figura IV.46 muestra con más detalle esta estructura, y se observa las células más unidas, con una apreciable disminución de los espacios intercelulares en el músculo *semimembranosus* respecto del músculo *biceps femoris* (Fig. IV.43). Esto se puede relacionar con los distintos niveles de humedad de estos músculos en el jamón en postsalado, que son de 71.73 % en el músculo *biceps femoris* y de 64.45 % en el músculo *semimembranosus*. En las figuras IV.43 y IV.46 se observa, para ambos músculos, el interior celular con mayor densidad de artefacto eutéctico que en las etapas anteriores, pernil y pernil salado (Fig. IV.19, IV.20, IV.32 y IV.33). Esto se atribuye a una mayor presencia de solutos disueltos tanto en el interior como en el exterior celular, por el efecto de la sal, ya que el reparto de la misma se uniformiza en las piezas al final de la etapa de postsalado.

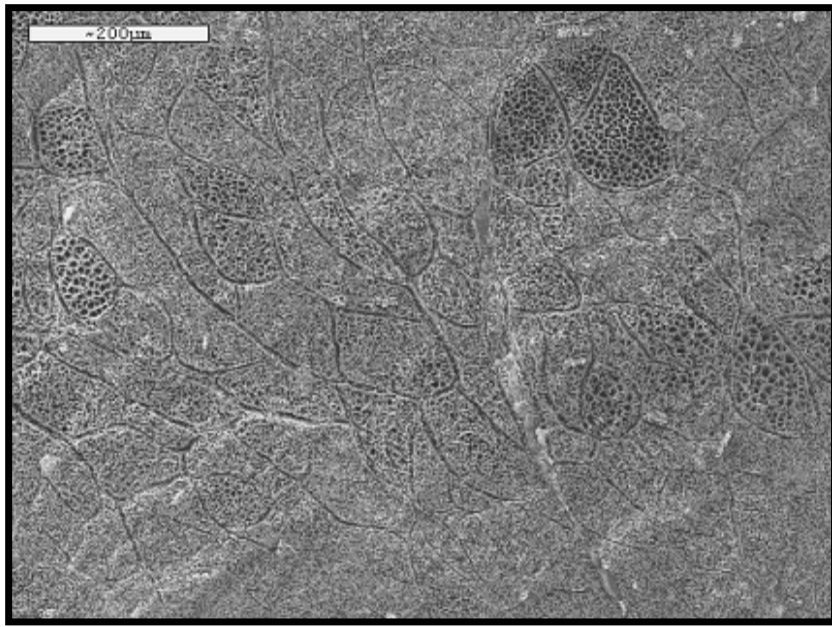


Figura IV.41. Sección transversal del músculo *biceps femoris* de jamón postsalado. (Cryo-SEM).



Figura IV.42. Sección transversal del músculo *biceps femoris* de jamón postsalado. (Cryo-SEM).

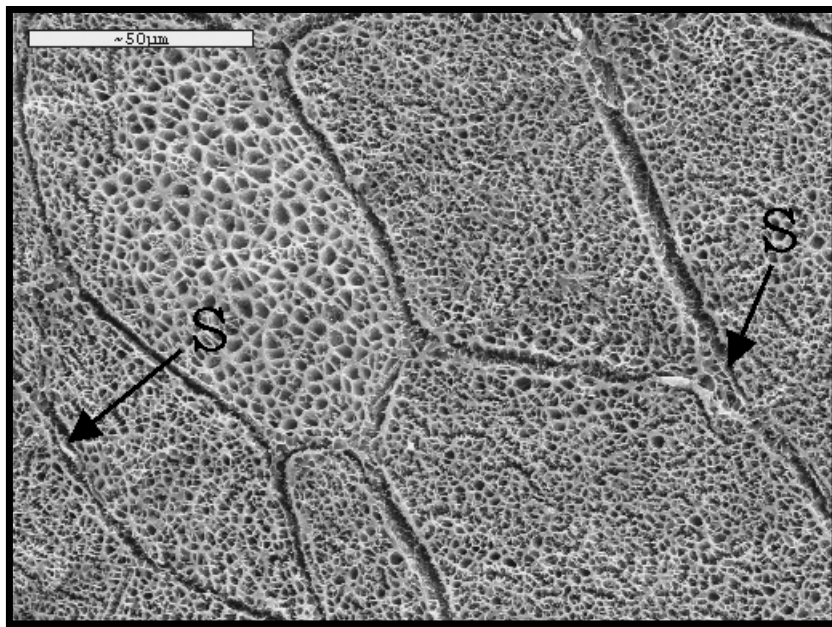


Figura IV.43. Sección transversal de músculo *biceps femoris* de jamón postsalado. Restos de sarcolema (S) (Cryo-SEM).

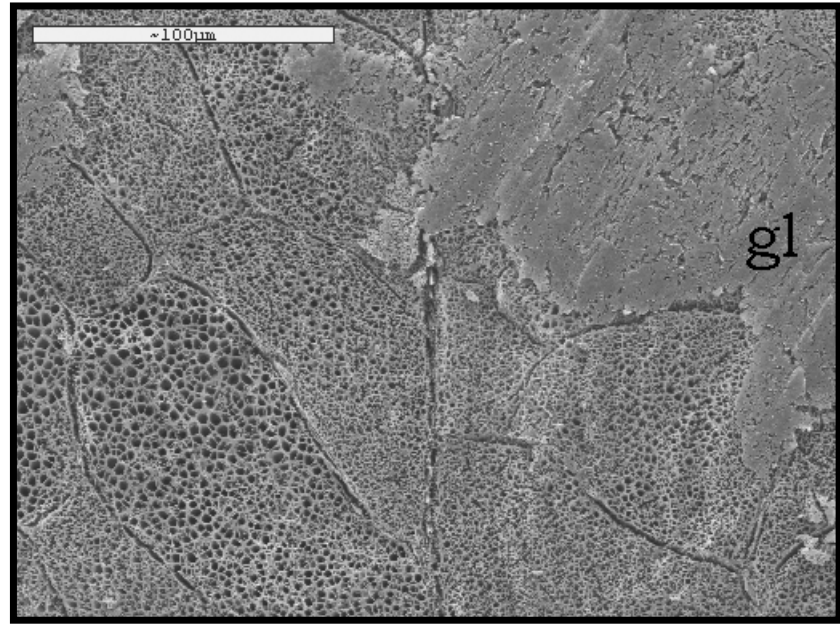


Figura IV.44. Sección transversal del músculo *biceps femoris*. Grasa libre intramuscular (gl) (Cryo-SEM).

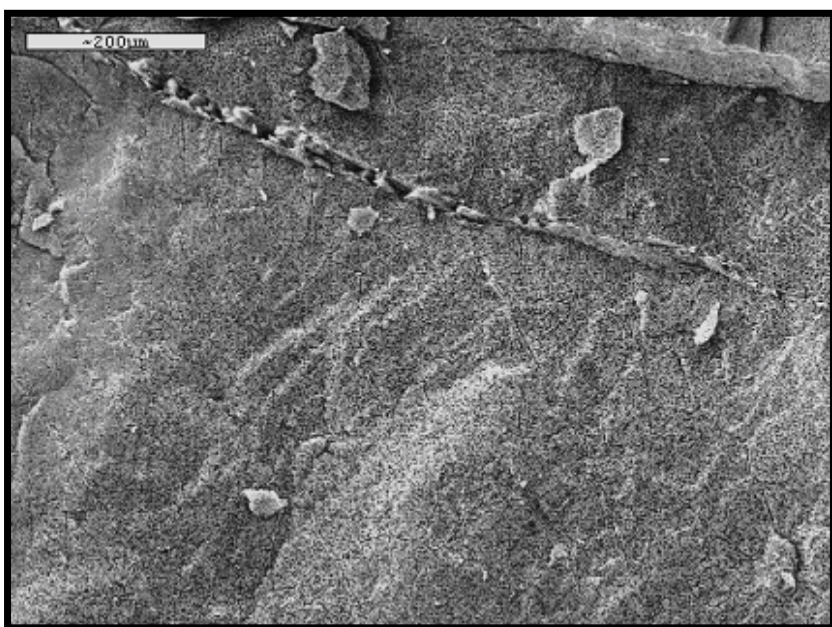


Figura IV.45. Sección transversal del músculo *semimembranosus* de jamón postsalado. (Cryo-SEM).

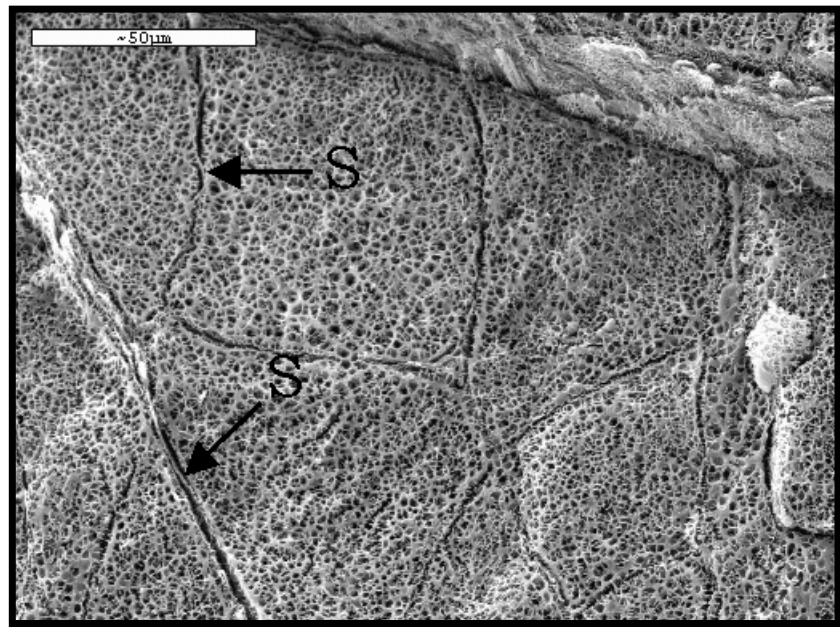


Figura IV.46. Sección transversal del músculo *semimembranosus* de jamón postsalado. Restos de sarcolema (S) (Cryo-SEM).

La microestructura de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del jamón curado “D.O. Teruel” por Cryo-SEM se observa en las figuras IV.47 a IV.55.

Una sección transversal del músculo *biceps femoris* de jamón muestra los haces de fibras musculares, con las uniones intercelulares desdibujadas; el tejido conjuntivo endomisial prácticamente no se aprecia y las células aparecen íntimamente unidas entre sí (Fig. IV.47). En la figura IV.48 se observan con más detalle estos haces de fibras musculares y en la zona donde originalmente se situaba el tejido conjuntivo perimisial; se aprecia una acumulación importante de solutos, que podrían ser productos de la proteólisis generados fundamentalmente en la última etapa de maduración, procedentes de las células del tejido muscular y también de los componentes propios del tejido conjuntivo. Este efecto de proteólisis junto con el de solubilización producido por el NaCl y la pérdida de humedad durante el proceso, contribuiría a la migración de una gran variedad de compuestos químicos, desde el interior celular, hacia los espacios intercelulares originalmente ocupados por las proteínas del tejido conjuntivo. Se rompe la discontinuidad típica entre células y haces musculares, y se constituye una matriz proteica más homogénea y menos diferenciada que caracteriza la estructura del jamón curado (Fig. IV.49).

La actividad proteolítica que tiene lugar durante todo el proceso de elaboración del jamón tiene como consecuencia principal la degradación de las proteínas miofibrilares (aptdo IV.2.2.2), que explicaría la pérdida de la estructura intracelular organizada en miofibrillas, típica del pernil. En el interior de las células (Fig. IV.50) se observa ahora el típico artefacto eutéctico, que en este caso refleja la presencia de una alta densidad de solutos debido a la proteólisis que ha tenido lugar durante el proceso, junto con una importante pérdida de humedad.

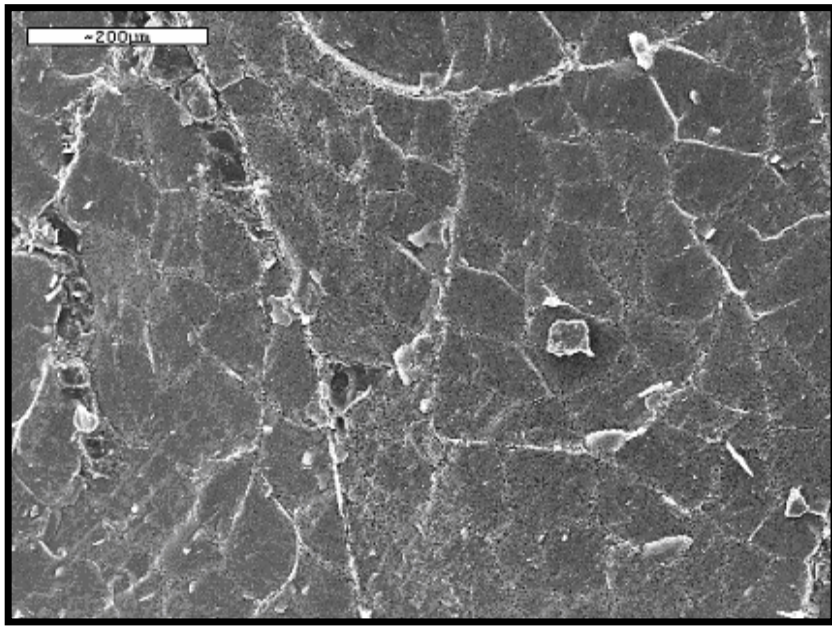


Figura IV.47. Sección transversal del músculo *biceps femoris* del jamón curado “D.O. Teruel” (Cryo-SEM).

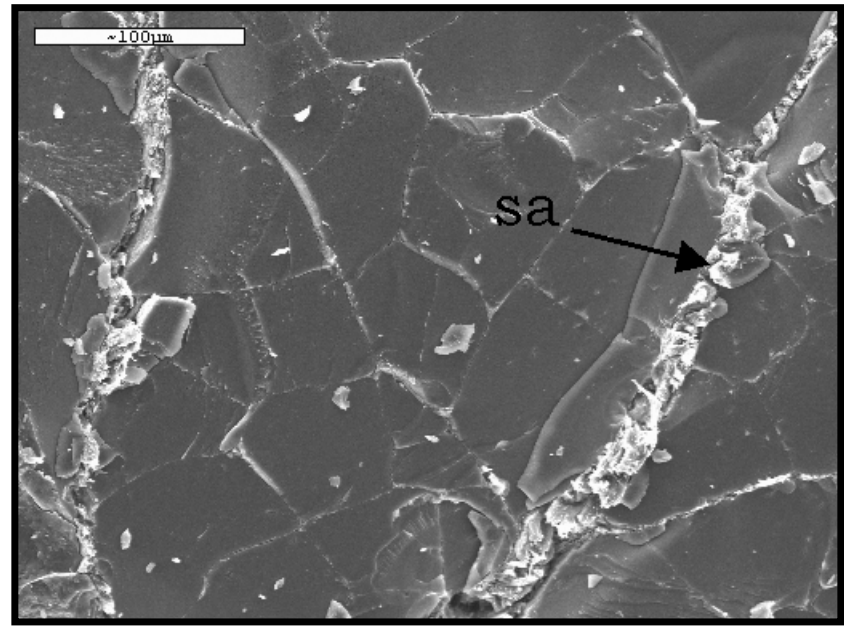


Figura IV.48. Sección transversal del músculo *biceps femoris* del jamón curado “D.O. Teruel”. Solutos acumulados (sa) (Cryo-SEM).

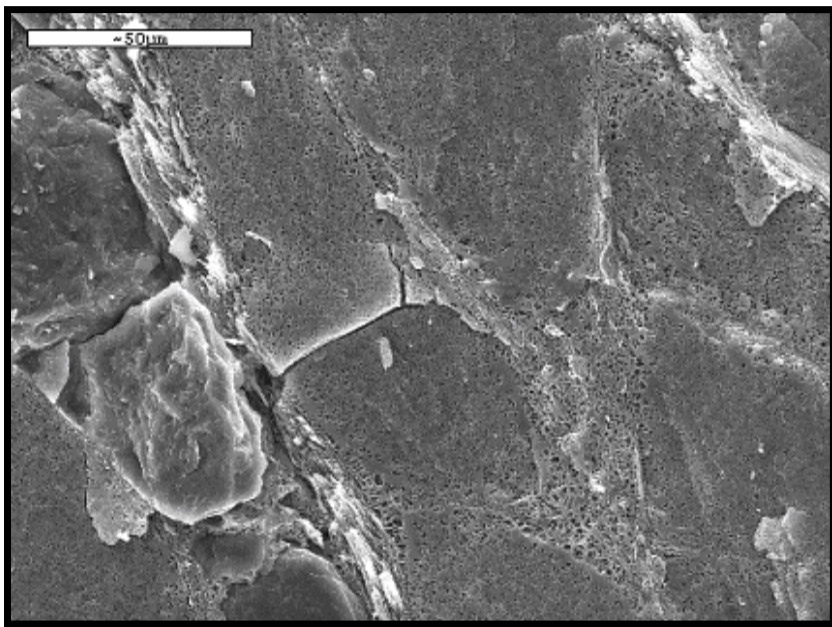


Figura IV.49. Sección transversal del músculo *biceps femoris* del jamón curado “D.O. Teruel” (Cryo-SEM).

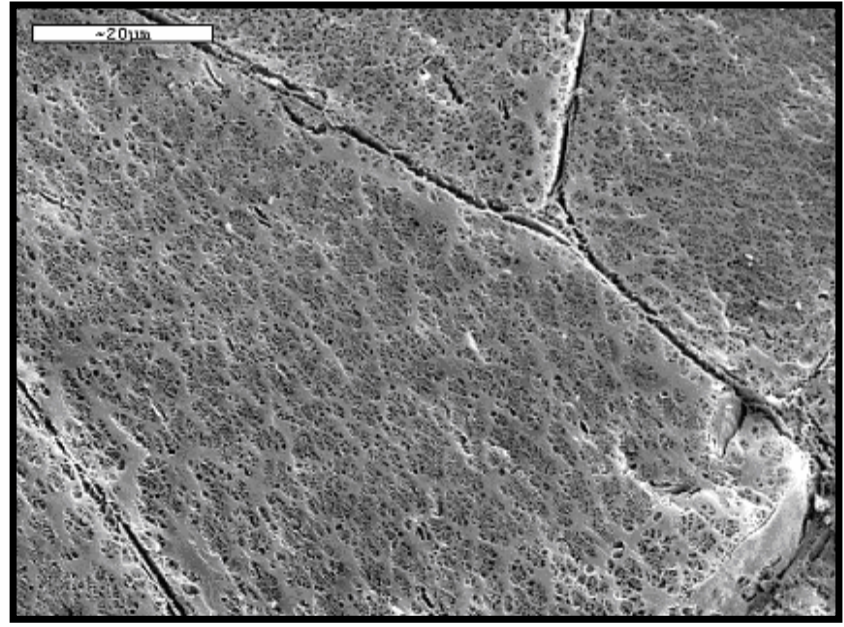


Figura IV.50. Sección transversal del músculo *biceps femoris* del jamón curado “D.O. Teruel”. Unión de fibras (Cryo-SEM).

Una sección transversal del músculo *semimembranosus* de jamón curado (Fig. IV.51) muestra el tejido muscular todavía menos diferenciado y más compacto que en el *biceps femoris*, donde además las células presentaban una sección con perfil más redondeado; la apariencia es de una matriz proteica bastante continua y poco diferenciada, con las células íntimamente unidas en el interior de los haces musculares. La diferencia que se ha encontrado en el contenido en humedad de ambos músculos al final del proceso, 57.70 % en *biceps femoris* y 47.75 % en el *semimembranosus*, explicaría la mayor compacidad observada en el tejido muscular del músculo *semimembranosus*. La ausencia de tejido adiposo como interfase entre el músculo *semimembranosus* y la superficie del jamón, contribuye

también a un mayor contacto de las sales de curado utilizadas en el proceso de elaboración y por tanto un mayor efecto deshidratante. Además ya se ha visto que la concentración de NaCl en el músculo *semimembranosus* es superior a la del músculo *biceps femoris* prácticamente en todo el proceso, desde la etapa de salado (18.26 y 5.15 g NaCl / 100 g muestra) en los músculos *semimembranosus* y *biceps femoris*, respectivamente), hasta el final de la primera mitad de la etapa de maduración, donde prácticamente se igualan estos valores (14.55 y 16.17 g NaCl / 100 g muestra) en los músculos *semimembranosus* y *biceps femoris*, respectivamente (aptdo. IV.1.2).

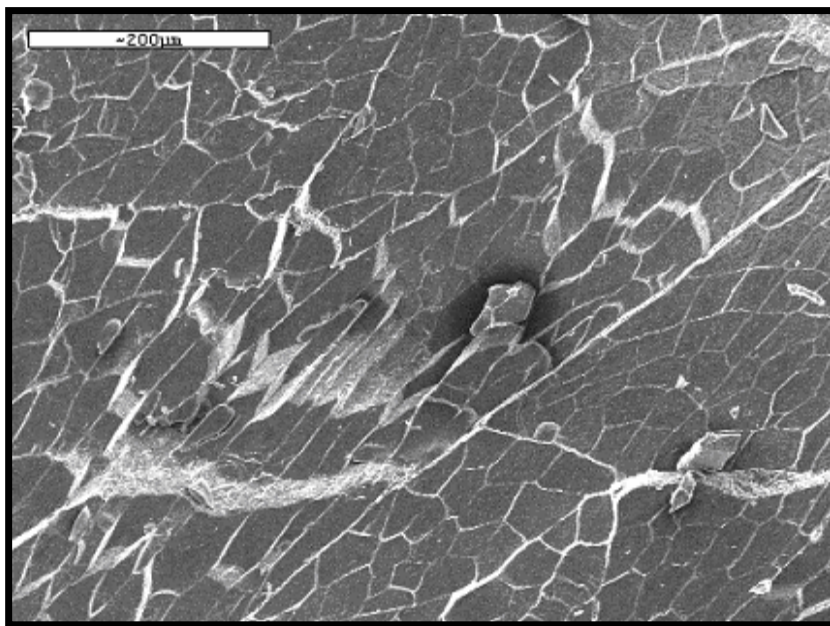


Figura IV.51. Sección transversal del músculo *semimembranosus* del jamón curado “D.O. Teruel” (Cryo-SEM).

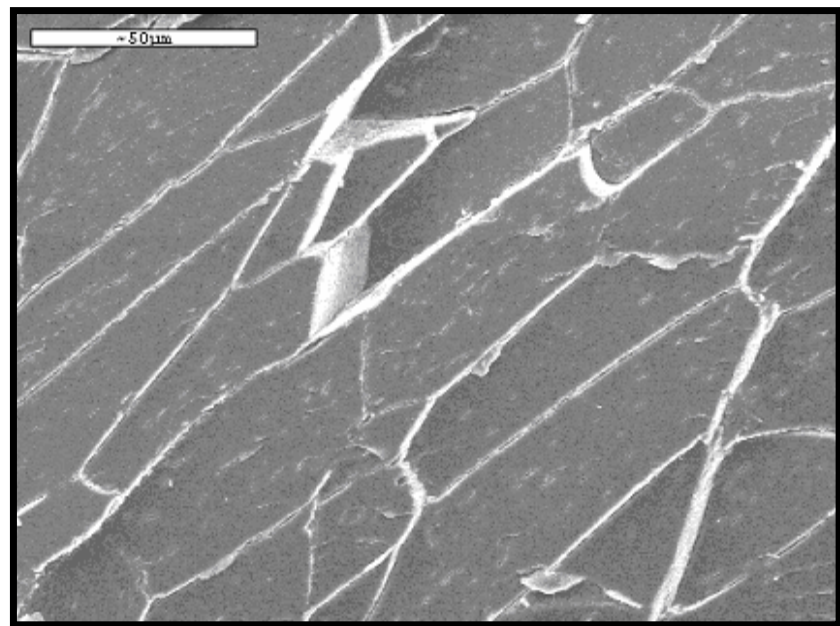


Figura IV. 52. Sección transversal del músculo *semimembranosus* del jamón curado “D.O. Teruel” (Cryo-SEM).

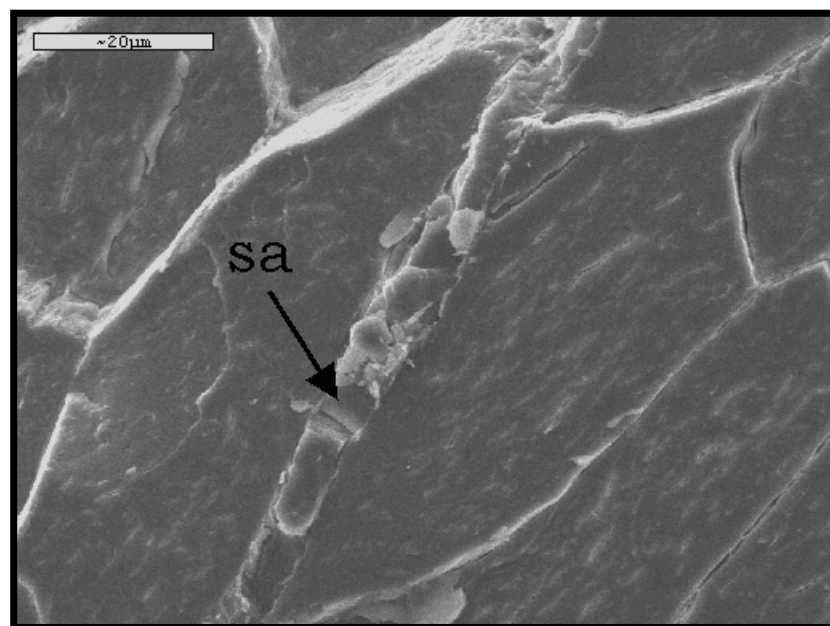


Figura IV.53. Sección transversal del músculo *semimembranosus* del jamón curado “D.O. Teruel”. Solutos acumulados (sa) (Cryo-SEM).

Las figuras IV.52 y IV.53 muestran en detalle algunas células del tejido muscular del músculo *semimembranosus* del jamón; el contenido intercelular aparece como una masa compacta sin apenas huecos. El menor porcentaje de agua en este músculo implica una mayor interacción entre otros componentes químicos, principalmente proteínas y productos de proteólisis. También se aprecia en esta figura que los espacios originalmente ocupados por el tejido conjuntivo perimisial ahora se encuentran repletos por los productos de proteólisis y solubilización que mayoritariamente habrán difundido desde el interior de las células (Fig. IV.53).

Las reacciones de proteólisis y lipólisis que tienen lugar durante el proceso de curado del jamón, no solamente afectan al tejido muscular, sino también de forma importante a los componentes del tejido adiposo (membranas, tejido conjuntivo y grasa) tanto del tejido adiposo intramuscular como del tejido adiposo del sebo o tocino que recubre al músculo *biceps femoris*. La grasa y los productos de la lipólisis se encuentran libres en el jamón e infiltrados entre las células del tejido muscular, contribuyendo de forma efectiva al sabor y aroma típicos del jamón curado. Otros autores atribuyen a los productos de lipólisis gran parte del sabor y aroma típico del jamón curado (Antequera et al., 1992; Motilva et al., 1993; Toldrá et al., 1997 y 1998a).

En la figura IV.54 se observa una veta microscópica de tejido adiposo intramuscular del músculo *biceps femoris* del jamón curado “D.O. Teruel”. Donde originalmente se situaban las células adiposas aparece ahora una veta de grasa libre debido a la degradación de las membranas de los adipocitos, con la consecuente salida de grasa intracelular.

La figura IV.55 muestra un corte transversal del sebo o grasa asociada al músculo *biceps femoris*. Si se compara con la grasa asociada al músculo *biceps femoris* de pernil salado (Fig. IV.39), en éste se observaba la disolución salina infiltrada entre los adipocitos, mientras que en el sebo del jamón curado los espacios intercelulares son prácticamente inexistentes y el interior celular se observa relleno completamente de grasa que presenta un aspecto amorfo donde se ha perdido la estructura de pequeños glóbulos de grasa original (Fig. IV.27).

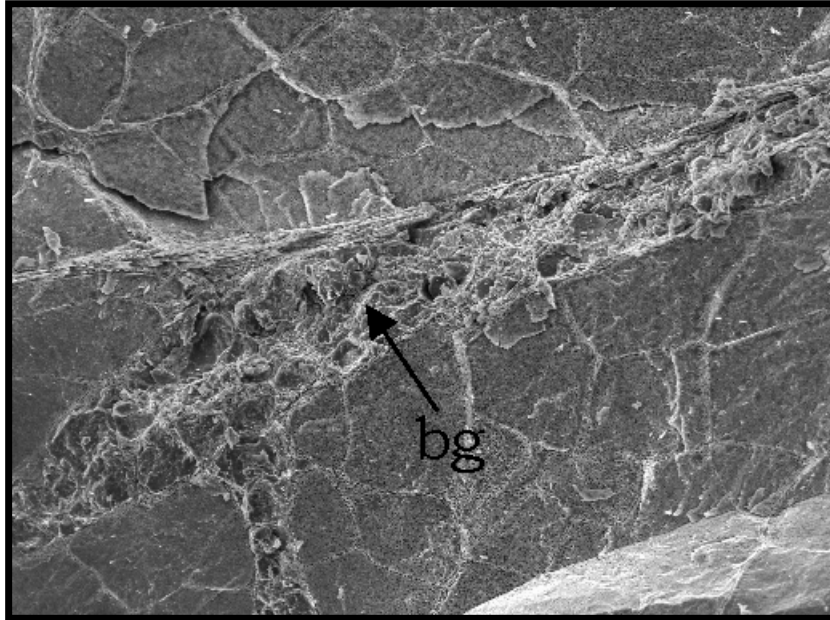


Figura IV.54. Sección transversal del músculo *biceps femoris* del jamón curado “D.O. Teruel” (Cryo-SEM).

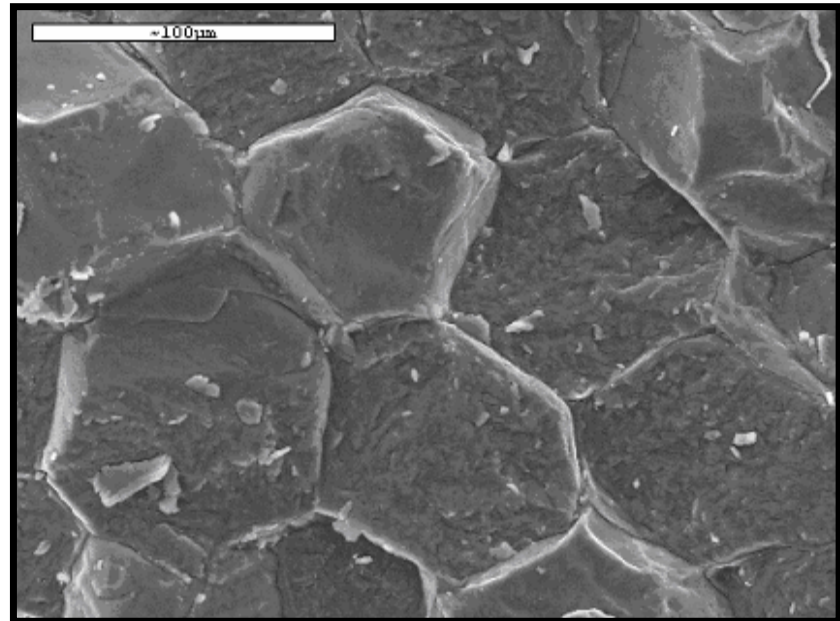


Figura IV.55. Sección transversal del tejido adiposo subcutáneo del jamón curado “D.O. Teruel” (Cryo-SEM).

IV.4.1.b. Microscopía Electrónica de Barrido

En la preparación de muestras para Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) se realiza una fijación química para preservar la estructura de los componentes mayoritarios (proteínas y grasa), y además se lleva a cabo una ultradeshidratación con lo cual las muestras se observan libres de agua. Este hecho permite acceder a la observación de algunas estructuras que con la técnica de Cryo-SEM, debido a la presencia de agua, podrían quedar enmascaradas.

Se han estudiado por SEM secciones transversales y longitudinales de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, además del tejido adiposo o grasa asociada al músculo *biceps femoris*, del pernil, pernil salado y jamón curado “D.O. Teruel”. La obtención de las distintas secciones se realiza según el apartado III.2.6.2 de Material y Métodos.

Las figuras IV.56 a IV.58 muestran un corte transversal del tejido muscular del músculo *semimembranosus* del pernil utilizado como materia prima en el proceso de elaboración. No se han observado diferencias estructurales entre el tejido muscular del músculo *biceps femoris* y del músculo *semimembranosus*.

En la figura IV.56 se aprecia diversos haces musculares separados por tejido conjuntivo perimisial o perimisio. La separación que se observa entre las células musculares dentro de cada haz se atribuye al efecto que la fijación química y la deshidratación producen en las muestras durante su preparación.

En la figura IV.57 se aprecia con más detalle el tejido conjuntivo perimisial, con una estructura fibrosa perfectamente adherida a las células que constituyen los distintos haces musculares.

En la figura IV.58 se observa también el tejido conjuntivo endomisial o endomisio, así como algunas células musculares, en corte transversal. El sarcolema de estas células se observa intacto, y en el interior se aprecian claramente las miofibrillas; la técnica de SEM permite observar la estructura de las miofibrillas en el interior de la célula. Las miofibrillas aparecen fuertemente adheridas entre si y con la membrana o sarcolema. Se aprecia claramente como las miofibrillas, componentes fundamentales del aparato contráctil de la célula, se sitúan en paralelo al eje mayor de las células musculares.

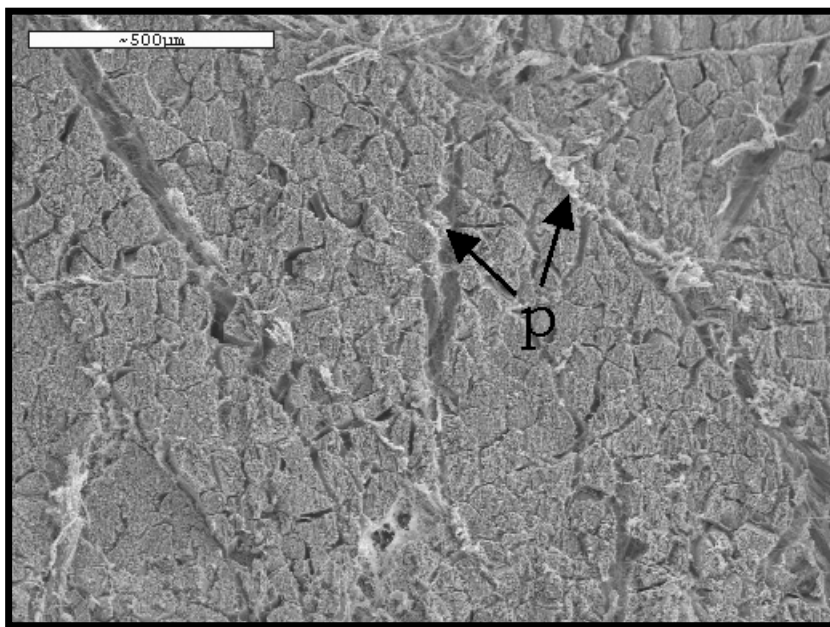


Figura IV.56. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de pernil. Perimysio (p). (SEM).

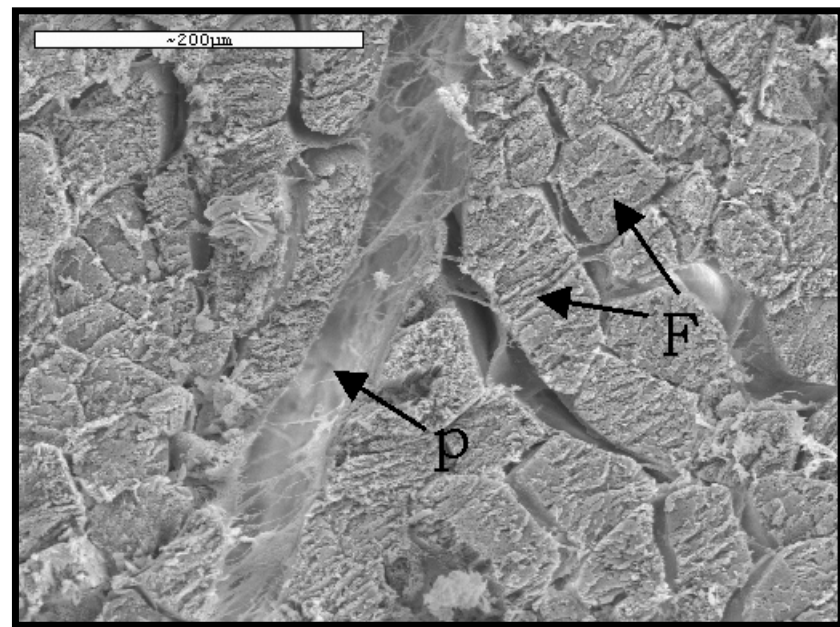


Figura IV.57. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de pernil. Perimysio (p); Fibras musculares (f).(SEM).

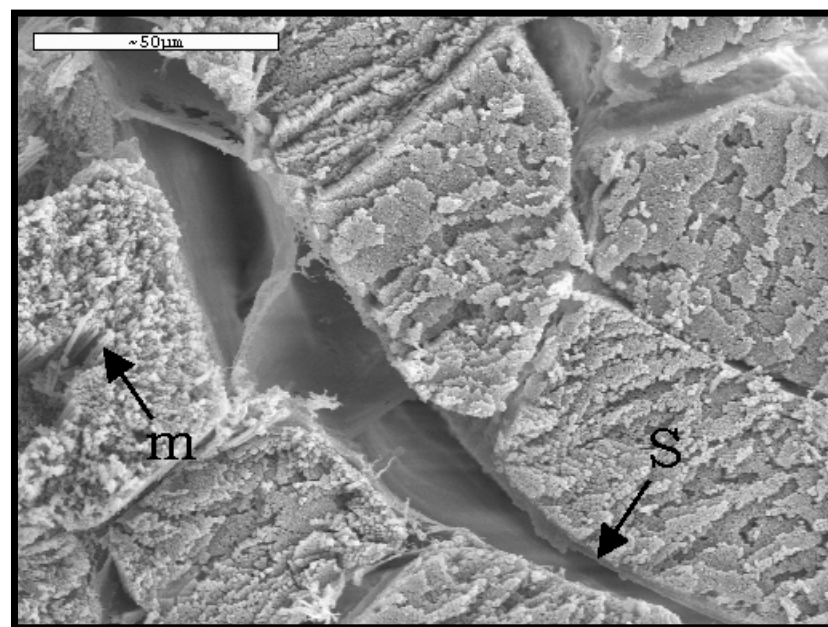


Figura IV.58. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de pernil. Sarcolema (S); miofibrillas (m) (SEM).

Las observaciones por SEM del tocino, o grasa asociada al músculo *biceps femoris*, muestran este tejido estructurado en haces de células adiposas ligadas por tejido conjuntivo (Fig. IV.59).

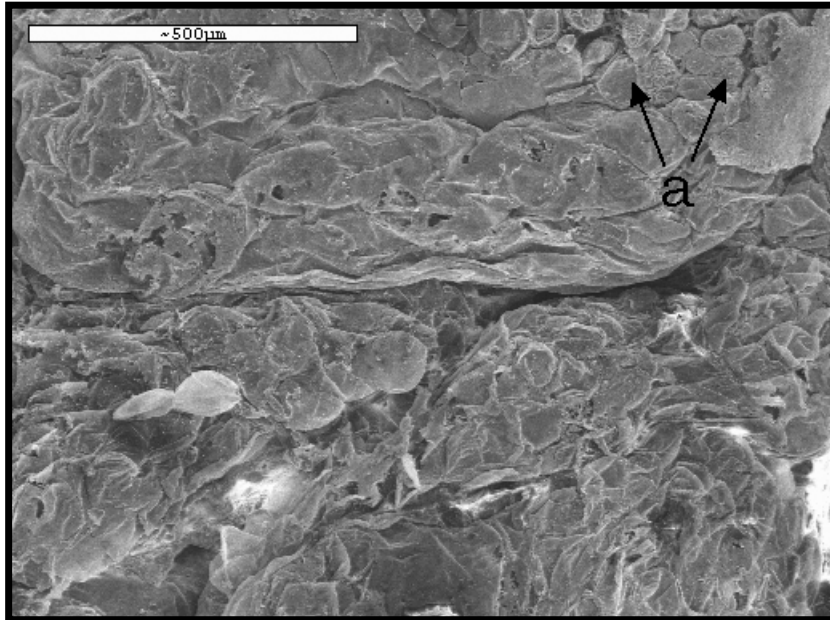


Figura IV.59. Sección longitudinal del tejido adiposo del pernil. Adipocitos (a). (SEM).

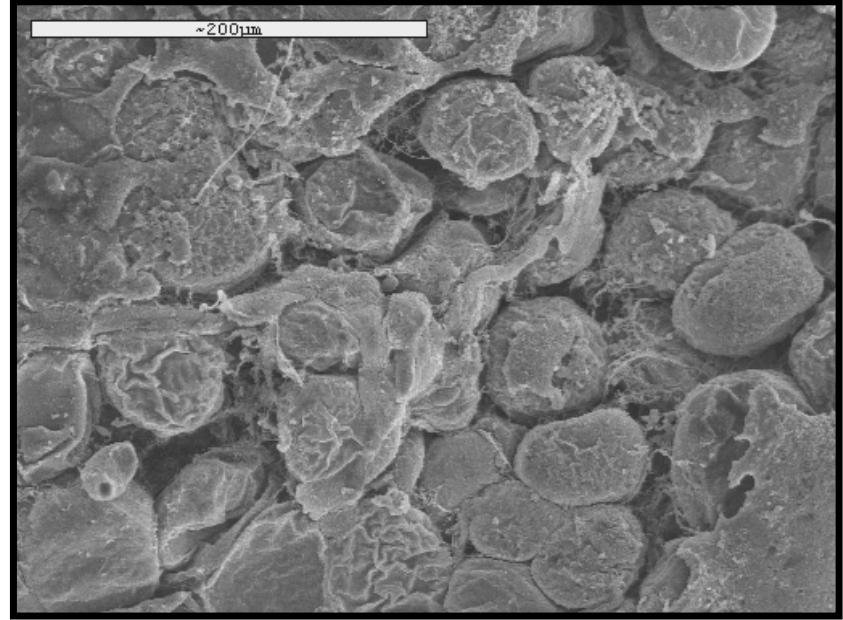


Figura IV.60. Sección transversal del tejido adiposo del pernil (SEM).

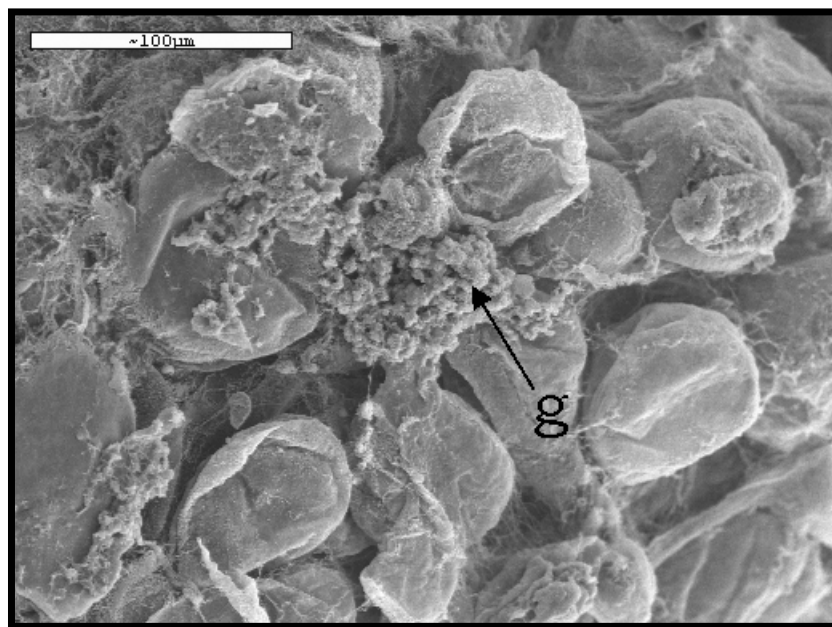


Figura IV.61. Sección transversal del tejido adiposo del pernil. Grasa libre (g). (SEM).

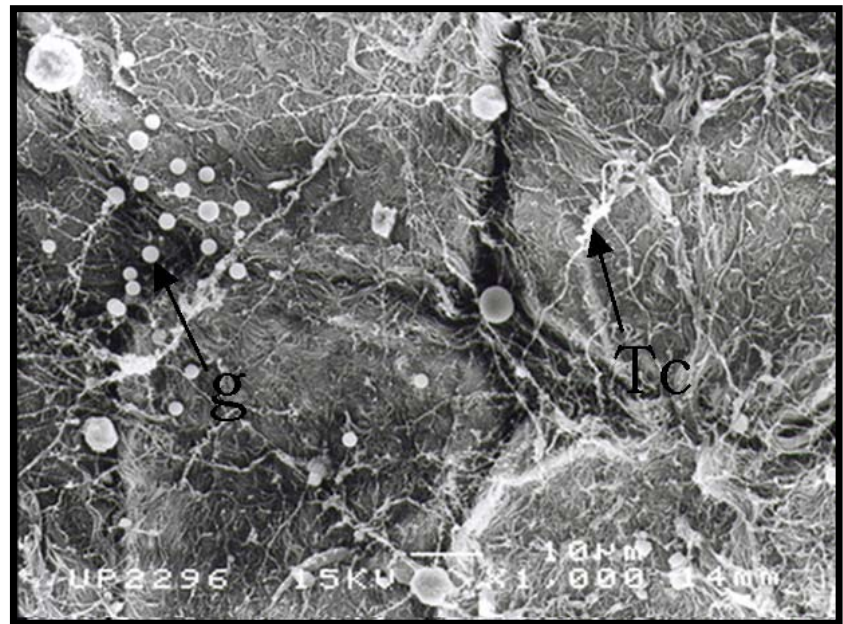


Figura IV.62. Sección transversal de tejido adiposo de pernil. Tejido conjuntivo (Tc); Grasa libre (g). (SEM).

Las figuras IV.60 y IV.61 muestran un detalle de las células adiposas. En la figura IV.60 se observan estas células adiposas, con un aspecto más o menos redondeado, aunque algunas se observan bastante deterioradas, e incluso plasmolizadas, de forma que se ha producido salida de la grasa y coalescencia de los glóbulos de grasa, que ahora están aquí fijados con tetróxido de osmio en esta técnica de SEM. En la figura IV.61 se aprecian agregados de glóbulos de grasa en el exterior celular, así como restos de tejido conjuntivo que une estas células entre sí.

La figura IV.62 muestra claramente un grupo de células adiposas rodeadas por tejido conjuntivo; también se aprecian algunas gotículas de grasa que han salido de las células por el deterioro sufrido por éstas durante la preparación de la muestra.

Las figuras IV.63 a IV.66 muestran un corte longitudinal del tejido muscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del pernil salado. Las figuras IV.63 y IV.64 muestran cortes donde se puede observar el cloruro sódico depositado sobre la superficie de las células musculares; se pueden observar estructuras F cúbicas, sistema en el que cristaliza el NaCl. El proceso de deshidratación y ultradeshidratación al que se somete la muestra durante su preparación para SEM permite la observación de los cristales de cloruro sódico que se depositan sobre las muestras y que la técnica de Cryo-SEM no permitía observar. A pesar de la inmersión de la muestra en sucesivas disoluciones fijadoras, deshidratantes, de lavado, etc, hay una cierta cantidad de sal que permanece en algunas zonas de las muestras y puede ser observada por SEM. En las figuras IV.65 y IV.66 se observan con detalle los cristales de cloruro sódico distribuidos de una forma uniforme sobre la superficie de las fibras musculares de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* respectivamente. El análisis de cloruros (apartado IV.1 s y Discusión) revela que efectivamente la disolución salina se infiltra en el tejido muscular en la etapa de salado y la concentración de sal en el músculo *semimembranosus* de pernil salado es superior (18.26 g NaCl / 100 g muestra (b.h.)) a la concentración en el músculo *biceps femoris* (5.15 g NaCl / 100 g muestra (b.h.)).

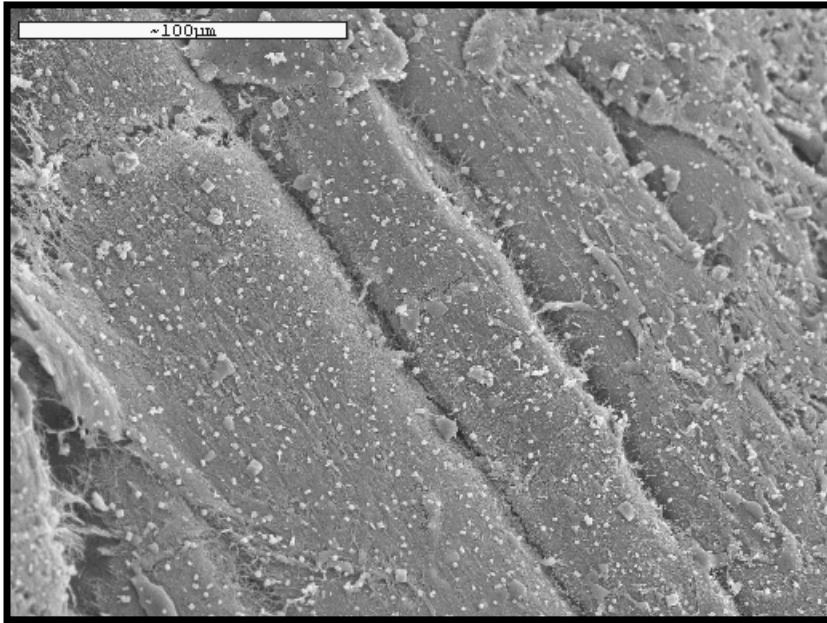


Figura IV.63. Sección longitudinal del músculo *biceps femoris* del perril salado (SEM).

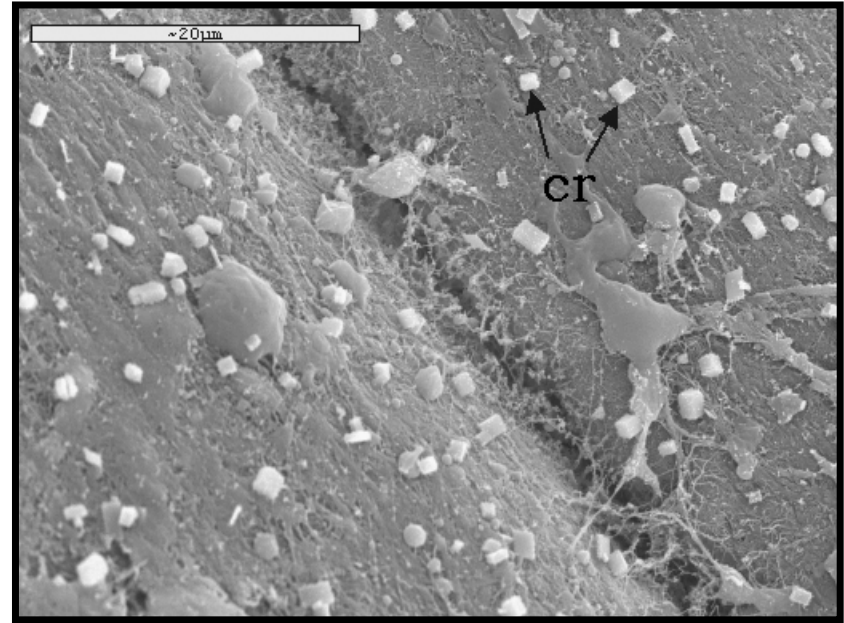


Figura IV.64. Sección longitudinal del músculo *biceps femoris* del perril salado. Cristales de NaCl (cr) (SEM).

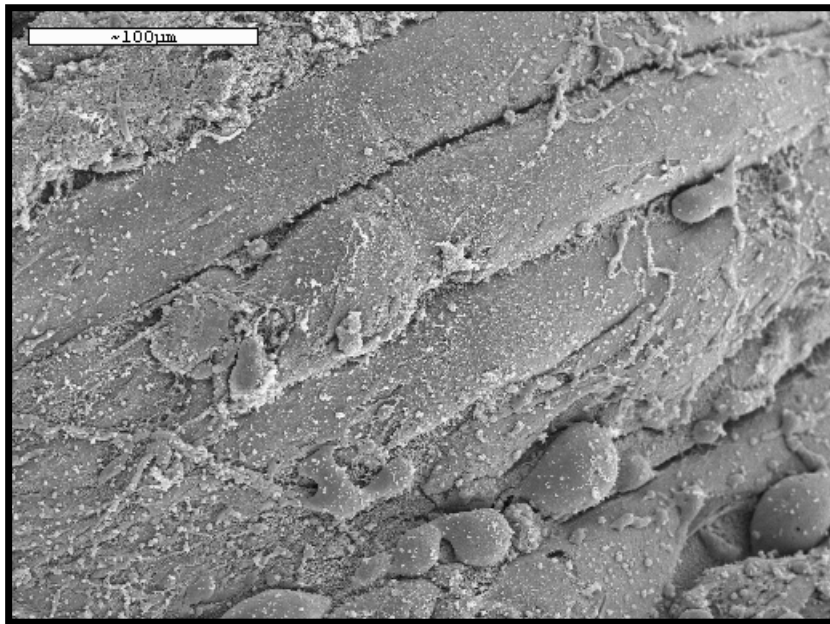


Figura IV.65. Sección longitudinal del músculo *semimembranosus* de perril salado (SEM).

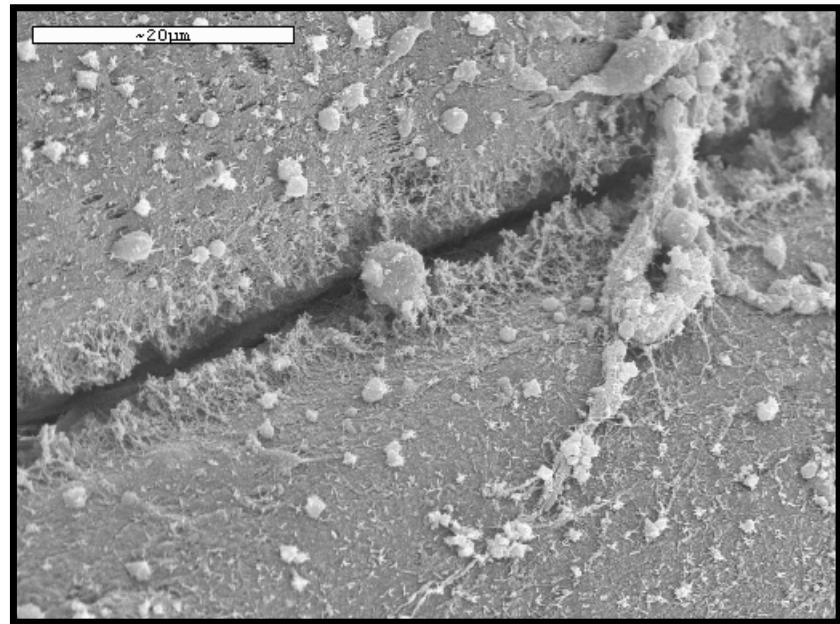


Figura IV.66. Sección longitudinal del músculo *semimembranosus* de perril salado (SEM).

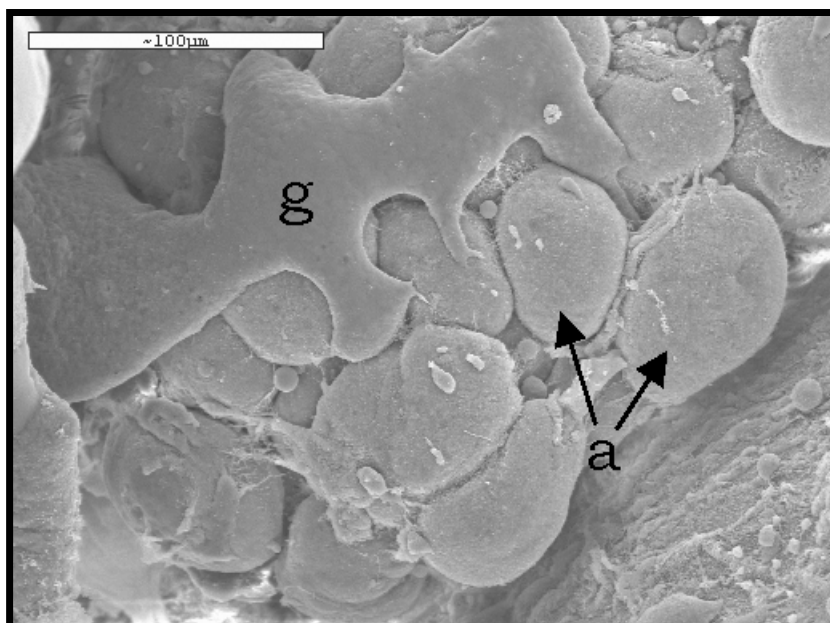


Figura IV.67. Grasa intramuscular en músculo *biceps femoris* de perril salado. Adipocitos (a); grasa libre (g) (SEM).

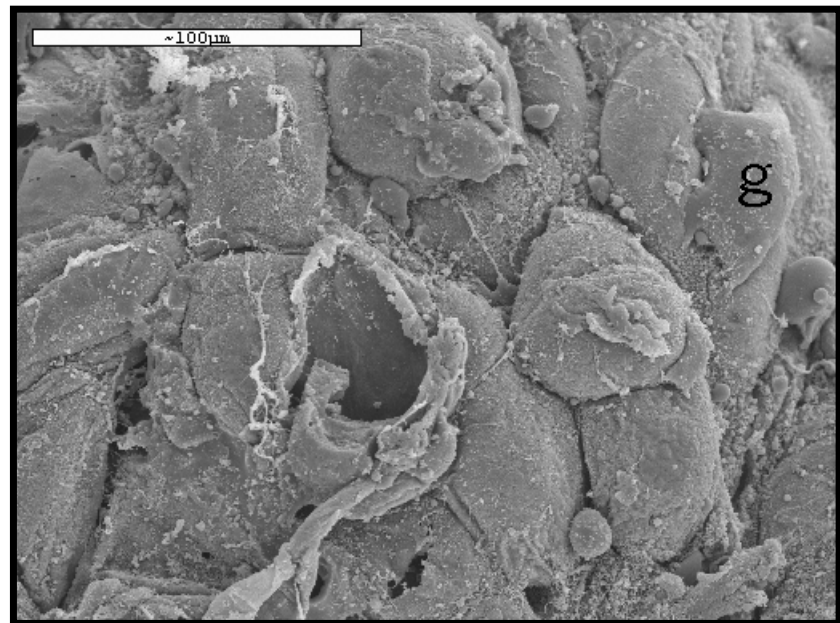


Figura IV.68. Sección transversal del tejido adiposo asociado al músculo *biceps femoris* de perril salado. Grasa libre (g) (SEM).

En la figura IV.67 se observa una veta de tejido adiposo intramuscular en el músculo *biceps femoris* de pernil salado, con grasa libre que ha sido fijada por el tetróxido de osmio; esta grasa libre procede de la coalescencia de gotículas liberadas de los correspondientes glóbulos de grasa de los adipocitos, cuyas membranas ya han sufrido alteración en esta etapa. Este hecho ya se ha apreciado en muestras de pernil salado estudiadas por Cryo-SEM (Fig. IV.36 y IV.38).

La figura IV.68 muestra el sebo o grasa asociada al músculo *biceps femoris* de pernil salado. En el tejido adiposo subcutáneo se observa degradación de las membranas de algunos adipocitos, con presencia de grasa libre. En las muestras de tejido adiposo observadas por Cryo-SEM las conclusiones son equivalentes y esto se atribuye fundamentalmente a la solubilización de membranas provocada por el agente osmótico.

Las figuras IV.69 a IV.71 muestran en sección transversal el músculo *semimembranosus* de jamón curado “D.O. Teruel”, donde se pueden observar los haces de fibras musculares, con las uniones intercelulares desdibujadas. El tejido conjuntivo endomisial no se aprecia claramente, y las células aparecen íntimamente unidas entre sí, tal y como se describió en las observaciones de estas mismas muestras por Cryo-SEM. Las micrografías obtenidas para el músculo *biceps femoris* de jamón curado ofrecen la misma información.

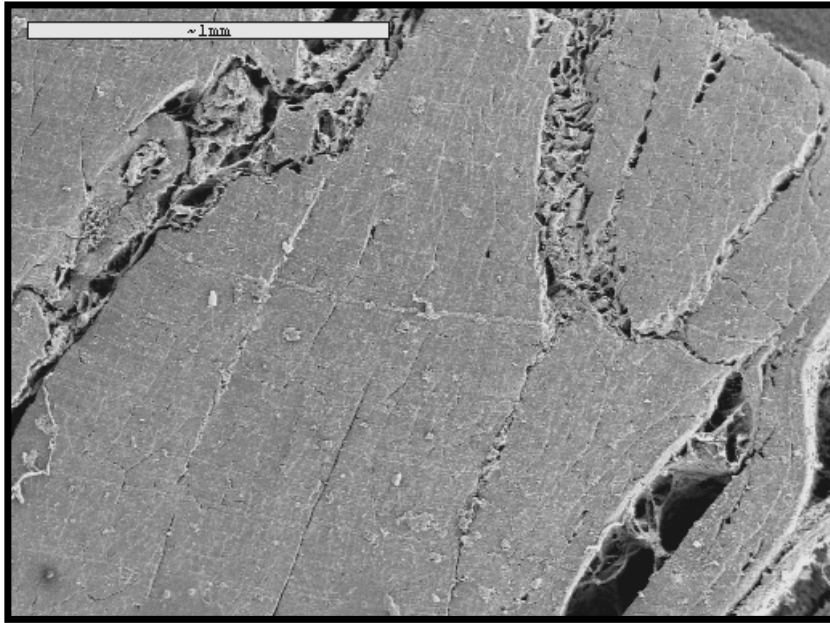


Figura IV.69. Sección transversal del músculo *semimembranosus* del jamón curado “D.O. Teruel” (SEM).

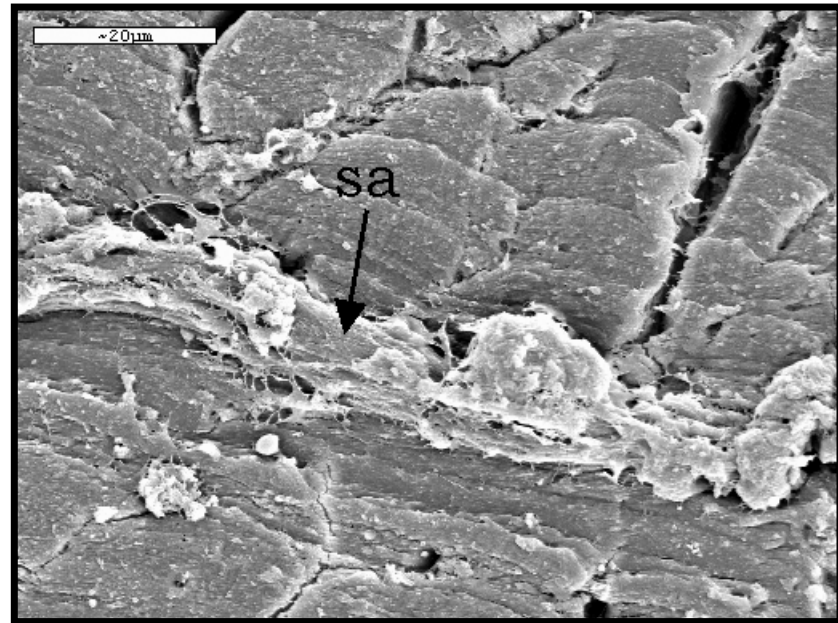


Figura IV.70. Sección transversal del músculo *Semimembranosus* del jamón curado “D.O. Teruel”. Solutos acumulados (sa) (SEM).

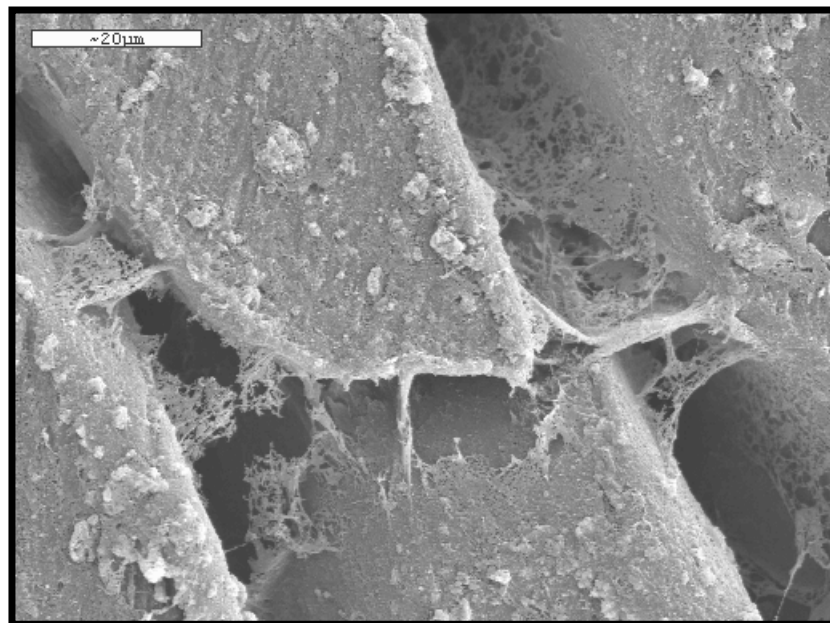


Figura IV.71. Sección transversal del músculo *semimembranosus* del jamón curado “D.O. Teruel” (SEM).

Hay que destacar que la técnica de SEM permite observar con gran claridad las vetas de grasa libre, infiltrada entre las células musculares (Fig. IV.72); la fijación con tetróxido de osmio, y la ausencia de agua, favorece la observación de la grasa liberada desde los adipocitos a lo largo del proceso, y que por coalescencia genera acumulación de grasa libre. También es posible observar multitud de gotículas de grasa (Fig. IV.73) que se sitúan en el interior del tejido muscular.

El tejido adiposo subcutáneo, o grasa asociada al músculo *biceps femoris*, observado por SEM (Fig. IV.74 y IV.75), muestra su desorganización al final del proceso si se compara con el pernil (Fig. IV.60); se aprecian áreas de grasa situadas en el exterior de las células, las cuales ya se encuentran muy deterioradas en el jamón curado. Este cambio estructural del tejido adiposo a lo largo del proceso favorece la detección de los aromas y sabores generados por lipólisis (aptdo. IV.3), y se sitúan fundamentalmente en las áreas de grasa liberada desde los adipocitos e infiltrada entre las células musculares, así como en el tejido adiposo subcutáneo.

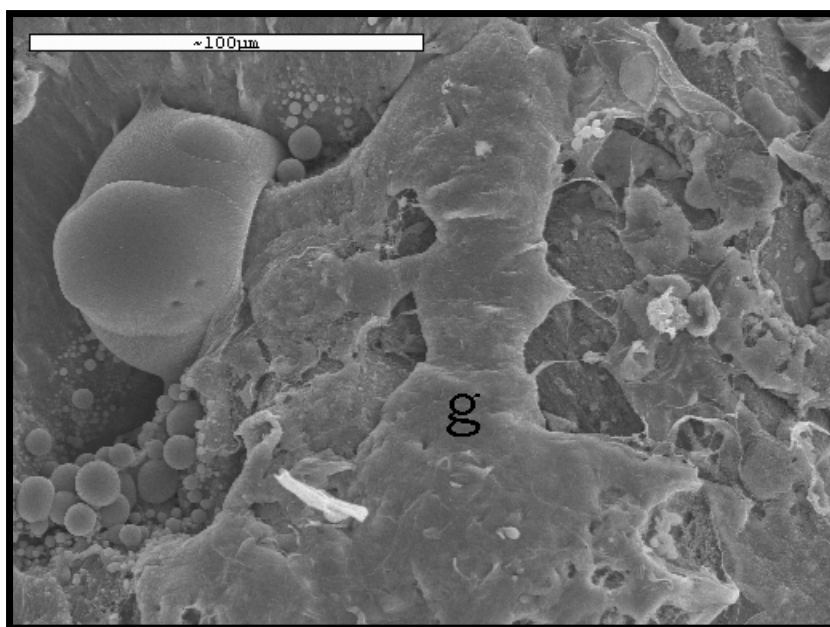


Figura IV.72. Sección transversal del músculo *biceps femoris* del jamón curado “D.O. Teruel”. Grasa libre (g) (SEM).

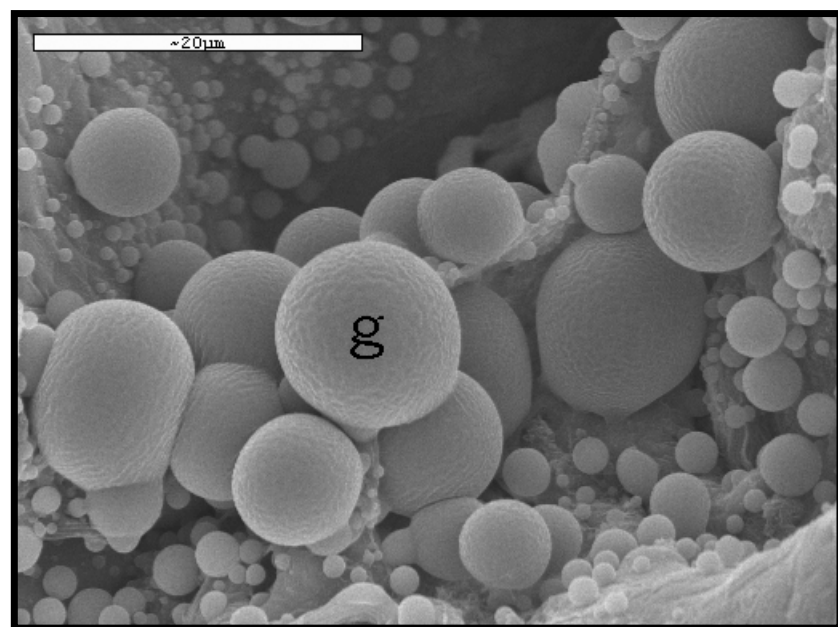


Figura IV.73. Sección transversal del músculo *biceps femoris* del jamón curado “D.O. Teruel”. Detalle de gotas de grasa libre (g). (SEM).

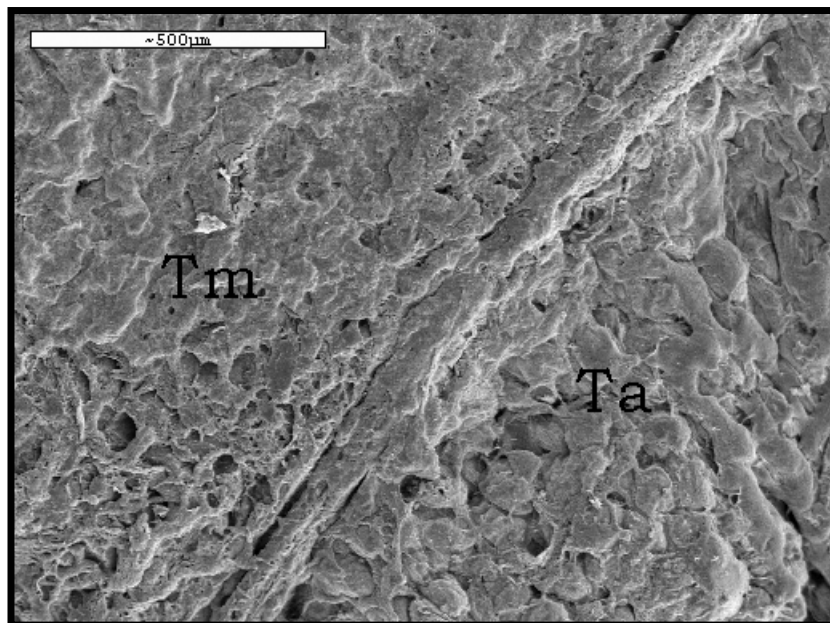


Figura IV.74. Grasa asociada al músculo *biceps femoris* del jamón curado. Tejido muscular (Tm); tejido adiposo (Ta). (SEM).

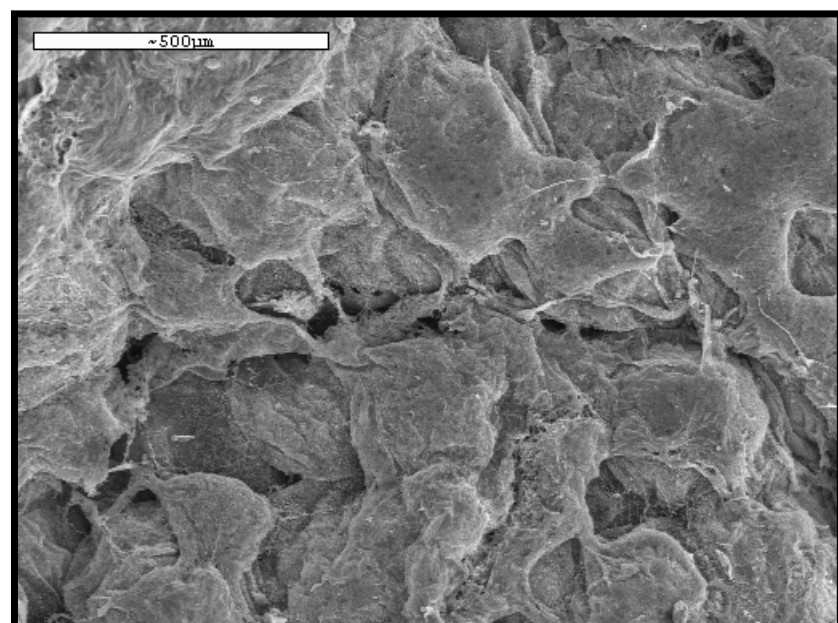


Figura IV.75. Grasa asociada al músculo *biceps femoris* del jamón curado. Detalle (SEM).

IV.4.2. CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL POR MICROSCOPIA ÓPTICA (LM)

La utilización de la Microscopia Óptica (LM) en el estudio del jamón curado ofrece la posibilidad de estudiar áreas más amplias de las diferentes muestras. Además, la posibilidad de tinción específica de diferentes componentes en las muestras, permite estudiar cómo va evolucionando su estructura cuando se ve sometida a cambios durante el proceso industrial. Todo ello hace que esta técnica complete y refuerce los resultados obtenidos por Microscopia Electrónica de Barrido (Cryo-SEM y SEM).

Las muestras estudiadas para su observación por LM se preparan según el protocolo descrito en el apartado III.2.6.3. Las muestras se fijan con glutaraldehído y tetróxido de osmio, se deshidratan en series de etanol y finalmente se incluyen en una resina epoxi para obtener secciones semifinas de 1-2 μm que se tiñen con azul de toluidina para su observación por LM. El azul de toluidina es un colorante básico de color violeta con propiedades metacromáticas, que se une a grupos ácidos cuando éstos se encuentran formando parte de grandes polímeros como las proteínas. Se utiliza en general para la tinción de células y núcleos.

Las figuras IV.76 a IV.79 muestran secciones transversales de tejido muscular del músculo *semimembranosus* procedente de pernil, pernil salado, jamón postsalado y jamón curado “D.O. Teruel”. En la figura IV.76 correspondiente a pernil se aprecian las células musculares teñidas de color azul violáceo por el azul de toluidina; las células aparecen bastante intactas rodeadas por la membrana o sarcolema y en los espacios intercelulares todavía se pueden detectar algunos restos de tejido conjuntivo endomisial, aunque la mayoría de los espacios intercelulares aparecen vacíos. Estas observaciones corroboran la información obtenida por las técnicas de Cryo-SEM y SEM. Con esta técnica además se aprecian claramente algunos núcleos de estas células, teñidos de azul oscuro por el colorante. Las células del músculo esquelético son multinucleadas, y los núcleos se sitúan en la periferia del paquete miofibrilar junto al sarcolema.

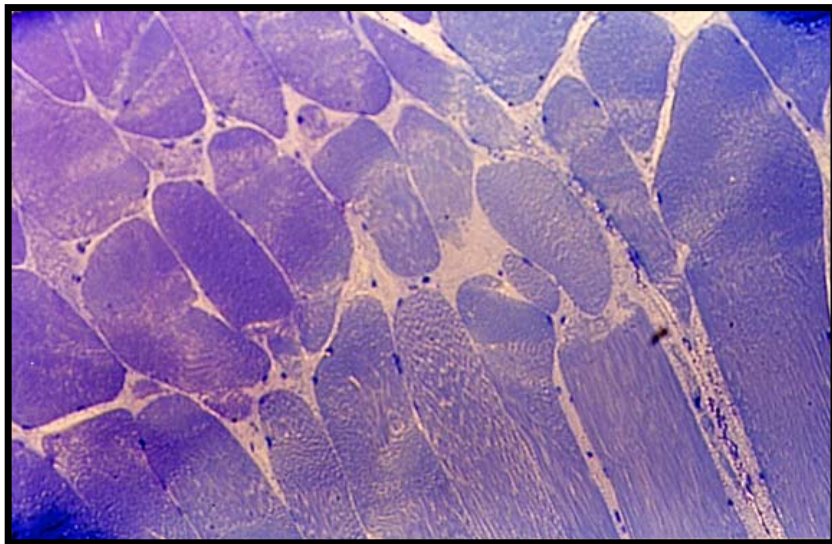


Figura IV.76. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de pernil. 20x. (LM).

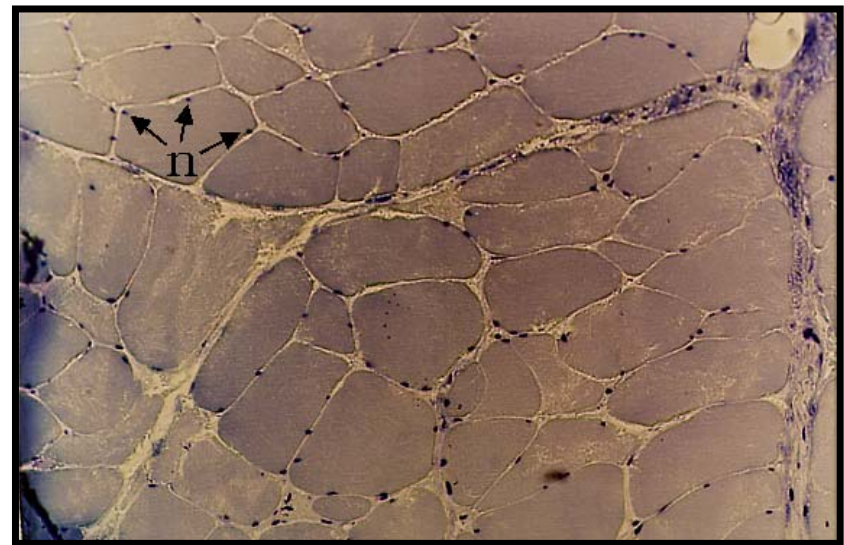


Figura IV.77. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de pernil salado. n: núcleo. 20x. (LM).

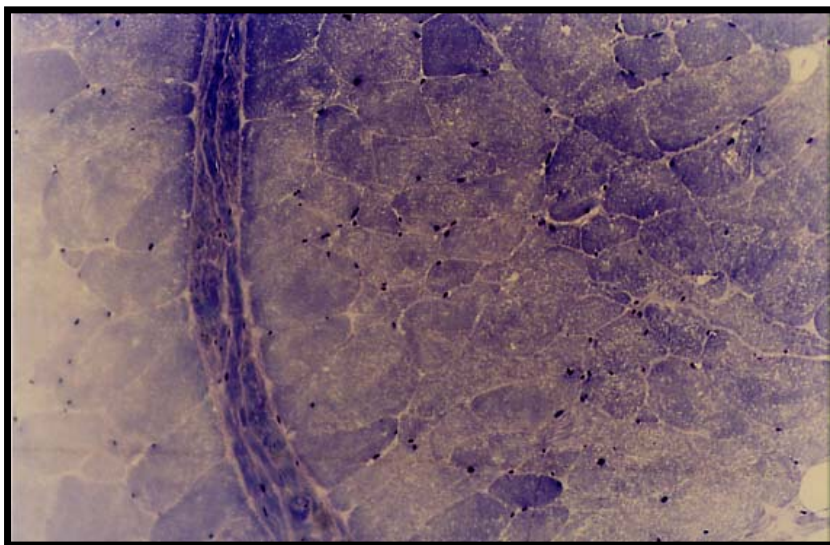


Figura IV.78. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de jamón postsalado. 20x. (LM).

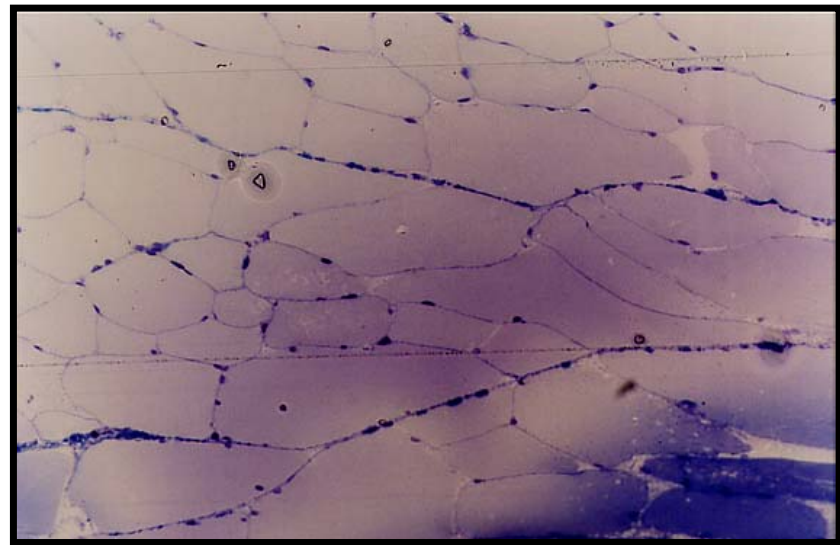


Figura IV.79. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de jamón curado "D.O. Teruel". 20x. (LM).

El tejido muscular característico del pernil evoluciona a lo largo del proceso, de forma que tanto después del salado (Fig. IV.77) como después del postsalado (Fig. IV.78) se observa un deterioro de la estructura de las células y una disminución en la diferenciación de los espacios intercelulares, que al final del proceso genera una estructura más o menos continua y poco diferenciada, con las uniones intercelulares desdibujadas tal y como se observa en la figura IV.79 de jamón curado "D.O. Teruel". Esta importante compactación producida en las fibras musculares es consecuencia de todos los cambios químicos que tienen lugar durante el proceso y que ya se han estudiado en este trabajo con especial referencia a la pérdida de agua y al enriquecimiento de NaCl. Los principales cambios estructurales que tienen lugar a lo largo del proceso se han descrito ya en el apartado IV.4.1.

Las figuras IV.80 a IV.84 muestran con más detalle algunas secciones obtenidas a partir del músculo *semimembranosus*, de distintos puntos del proceso. La tinción con azul de Toluidina permite observar, en las muestras de jamón postsalado, el interior de las células repletas de componentes teñidos de azul intenso, que deben ser los productos de proteólisis y solubilización que se generan ya en esta etapa. (Fig. IV.82).

En la figura IV.83 se muestra un corte transversal de jamón “D.O. Teruel” y se observa también la aparición de productos diversos acumulados en los espacios intercelulares teñidos con el colorante, y que se atribuyen a la importante proteólisis que tiene lugar durante el proceso y que ya se ha estudiado en otros apartados de este trabajo. En la figura IV.84, en la que se observa con más detalle una muestra de jamón, se aprecia el interior de las células musculares, y se observa la degradación del paquete miofibrilar con formación de agujeros o “gaps”, y concentración de diversos productos en el interior de la célula, teñidos con azul de toluidina; todo ello se atribuyen principalmente a la degradación de las proteínas sufrida durante el proceso.

Estos resultados indican que los solutos acumulados en los espacios celulares observados por las técnicas de Microscopía Electrónica de Barrido (Cryo-SEM y SEM), son principalmente productos de proteólisis generados en el interior de las células, que difunden hacia el exterior por efecto de solubilización y deshidratación durante el proceso.

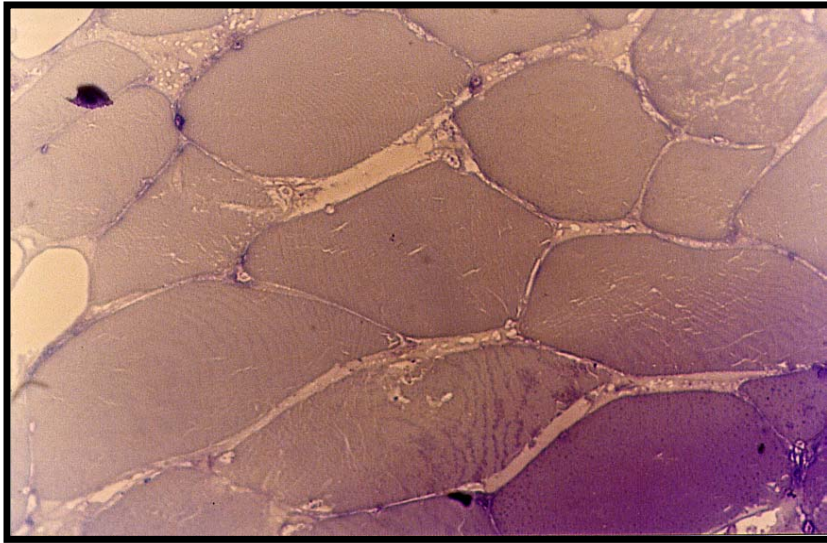


Figura IV.80. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de pernil. 40x. (LM).

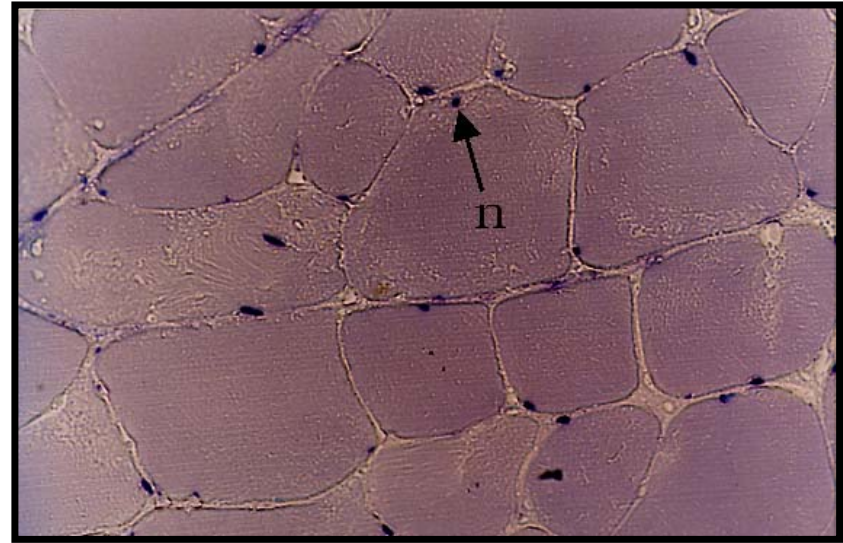


Figura IV.81. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de pernil salado. n: núcleo. 40x. (LM).

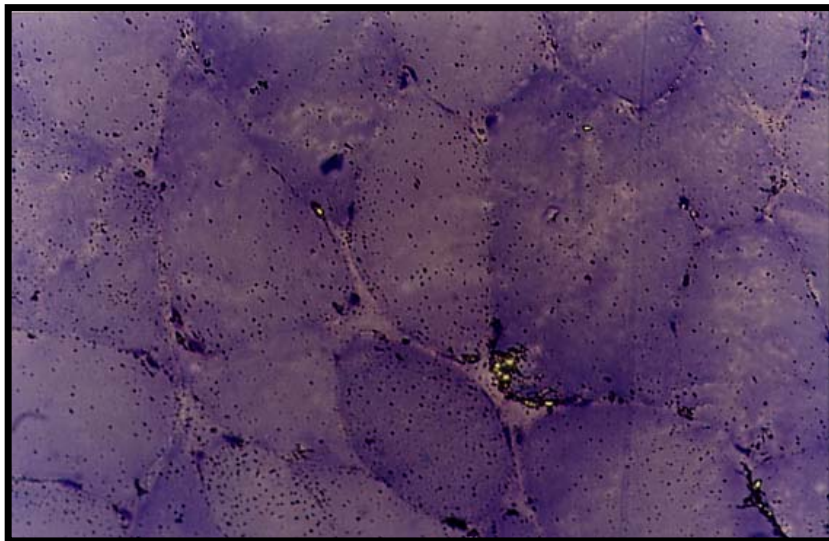


Figura IV.82. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de jamón tras postsalado. 40x. (LM).

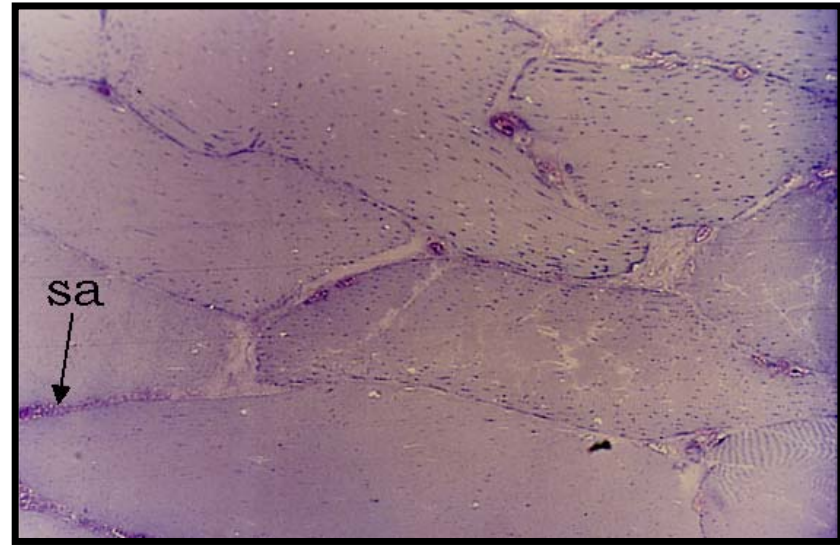


Figura IV.83. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de jamón curado "D.O. Teruel". Solutos acumulados (sa). 40x. (LM).

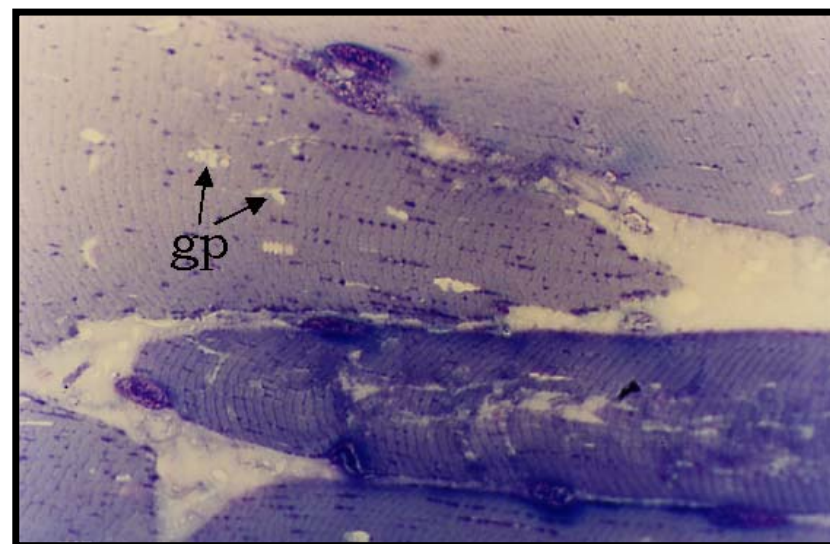


Figura IV.84. Sección transversal de músculo *semimembranosus* de jamón curado "D.O. Teruel". Gaps (g). 100x. (LM).

IV.4.3. CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM)

Las secciones que se observan por Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM) proceden de muestras preparadas siguiendo el protocolo descrito en el apartado III.2.6.4 de Material y Métodos. La preparación de la muestra es igual que para LM, pero en este caso se obtienen secciones ultrafinas por ultramicrotomía (100 Å).

La Microscopia Electrónica de Transmisión permite observar detalles ultraestructurales que no se aprecian con las otras técnicas estudiadas ya que permite acceder a mejores niveles de resolución; en el caso de la carne y productos cárnicos, es especialmente interesante la utilización de esta técnica para estudiar la estructura fundamental del tejido muscular o unidad sarcomérica, ya que las alteraciones microestructurales que sufre determinan importantes cambios en las características organolépticas del producto.

A nivel ultraestructural los cambios sufridos por los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* a lo largo del proceso siguen una pauta análoga.

Las figuras IV.85 a IV.95 muestran secciones ultrafinas obtenidas a partir del músculo *biceps femoris* de pernil, pernil salado y jamón curado “D.O. Teruel”.

La figura IV.85 muestra, en sección longitudinal, el interior de una fibra muscular con las miofibrillas perfectamente empaquetadas. Se distingue la disposición de los discos Z que marcan la longitud del sarcómero, y las miofibrillas aparecen alineadas perpendicularmente al eje principal de la fibra muscular. En esta figura se observan algunas mitocondrias situadas entre miofibrillas.

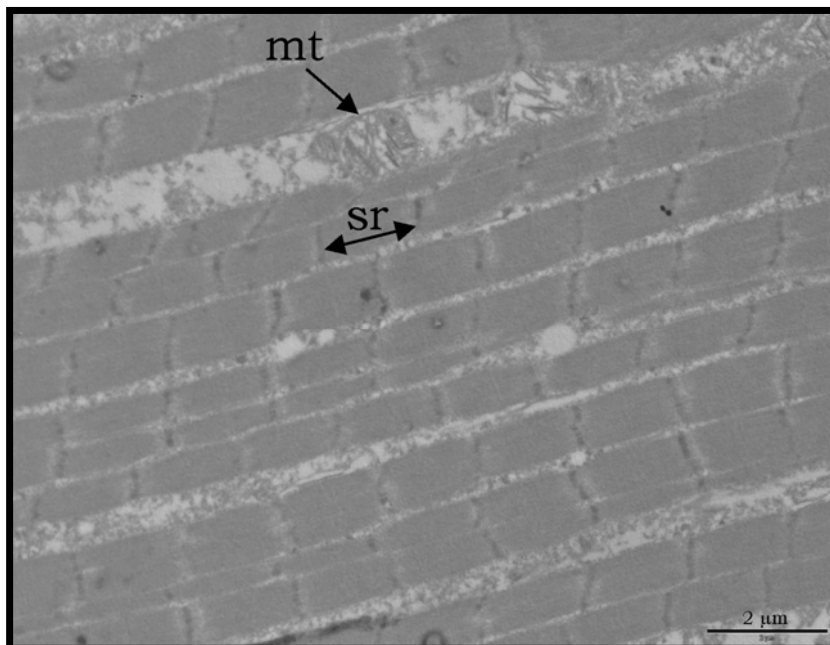


Figura IV.85. Miofibrillas en sección longitudinal de músculo *biceps femoris* de perril. Sarcómero (S); mitocondria (mt). 8.000x (TEM).

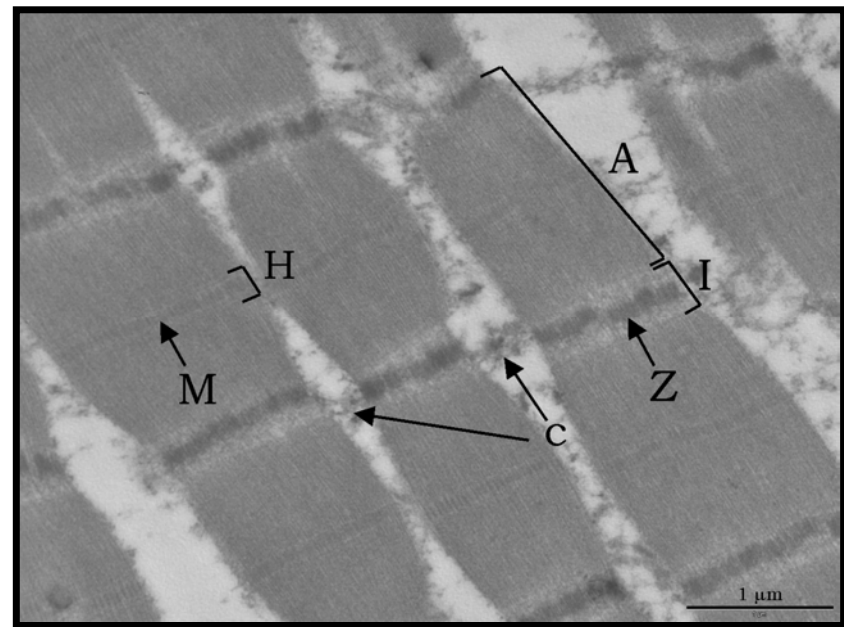


Figura IV.86. Miofibrillas en sección longitudinal de músculo *biceps femoris* de perril. Proteínas de los costámeros (c); banda H (H); línea M (M); banda I (I); banda A (A); discos Z (Z). 25.000x. (TEM).

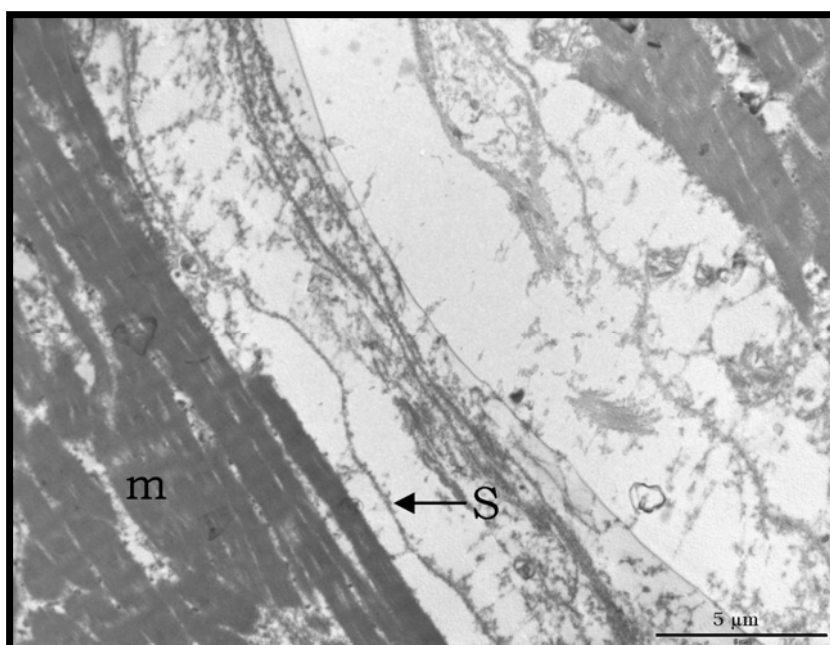


Figura IV.87. Sección longitudinal de músculo *biceps femoris* de perril. Sarcolema (S); miofibrillas (m) 6.000x. (TEM).

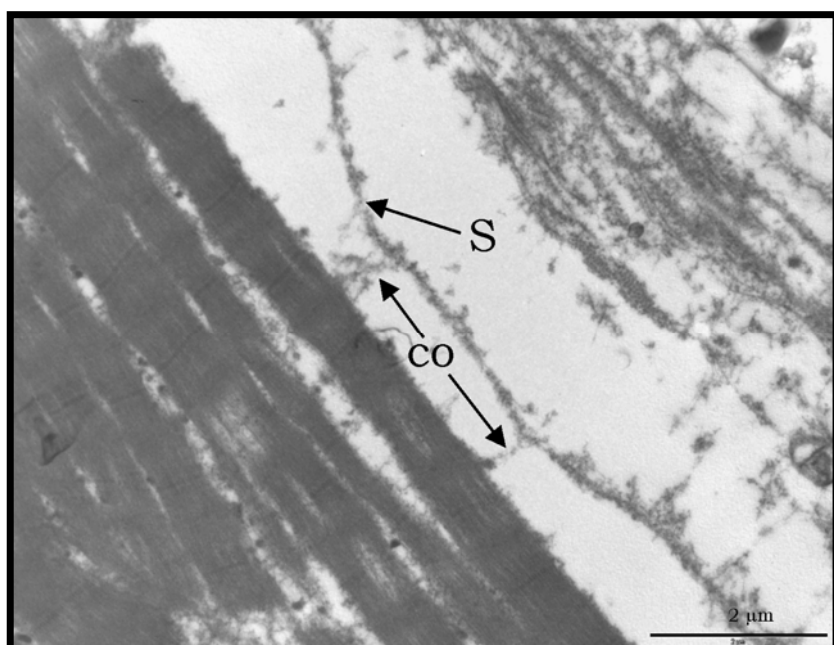


Figura IV.88. Sección longitudinal de músculo *biceps femoris* de perril. Sarcolema (s); conexiones proteicas, costámeros (co). 15000x. (TEM).

Las miofibrillas se encuentran conectadas entre sí a nivel de los discos Z por conexiones intermiofibrilares de tipo proteico o costámeros, componentes de una red citoesquelética que enlaza las miofibrillas entre sí y éstas con el sarcolema (Fig. IV.86). En la figura IV.86 se observa con más detalle algunas miofibrillas, donde se distinguen incluso los filamentos que las constituyen; se observan también los elementos estructurales que componen el sarcómero; se aprecian las bandas A e I, así como las líneas M, Z y la zona H; igualmente se distinguen las conexiones

proteicas intermiofibrilares (costámeros) que unen las miofibrillas a nivel de los discos Z.

En la figura IV.87 se observa una sección longitudinal de una célula de tejido muscular de pernil. Se observa la membrana o sarcolema, algo separada del paquete miofibrilar, pero bastante intacta. A pesar del tratamiento al que ha sido sometida la muestra durante su preparación, todavía se aprecian algunas conexiones proteicas que unen esta membrana con las miofibrillas (Fig. IV.88).

Las figuras IV.89 a IV.91 muestran secciones longitudinales de tejido muscular de pernil salado. En ellas ya se aprecia la alteración de la estructura miofibrilar, con aparición de una gran cantidad de huecos o “gaps”, fundamentalmente entre miofibrillas contiguas. Es difícil distinguir los elementos estructurales de la unidad sarcomérica, salvo los discos Z que todavía están visibles y continúan alineados (Fig.91). Monin et al., (1997) hace similares observaciones para pernils salados en el curado de jamones de Bayona.

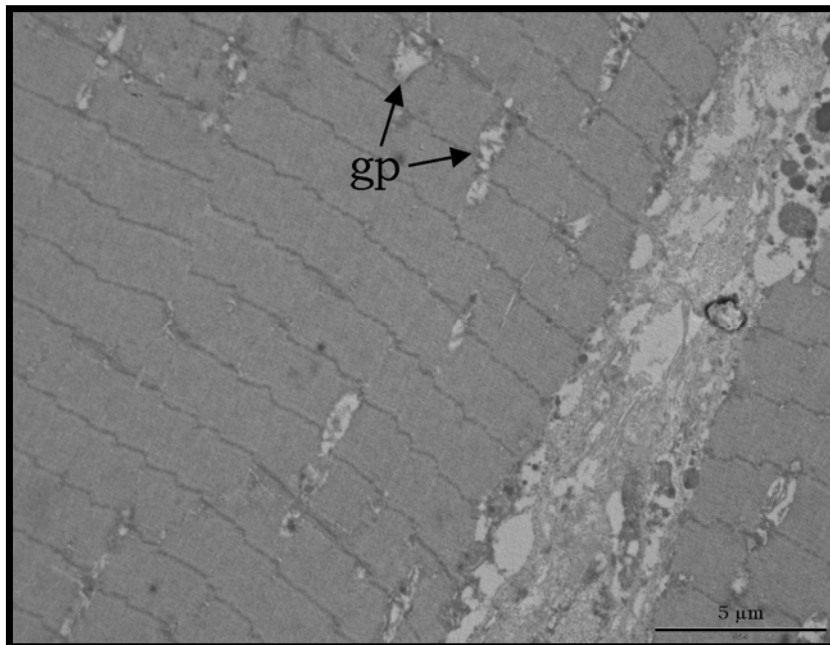


Figura IV.89. Sección longitudinal de músculo *biceps femoris* de pernil salado. Gaps (g). 6.000x (TEM).

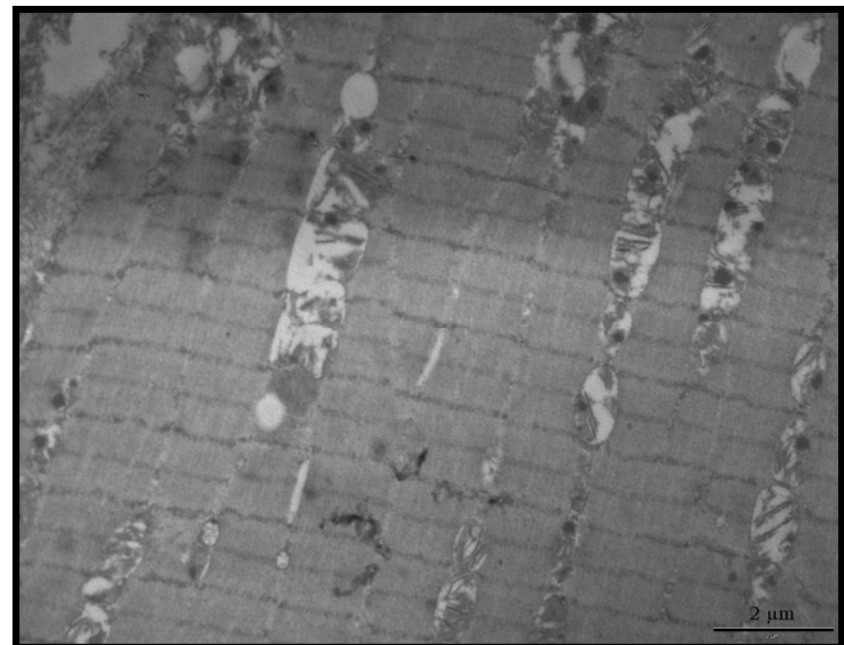


Figura IV.90. Sección longitudinal de músculo *biceps femoris* de pernil salado. 10.000x (TEM).

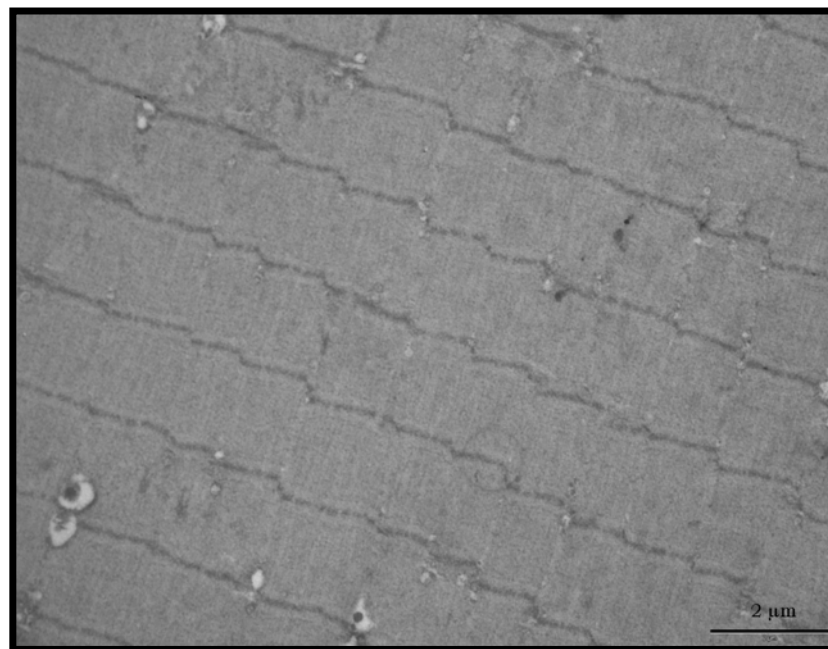


Figura IV.91. Sección longitudinal de músculo *biceps femoris* de pernil salado. 40.000x (TEM).

Las figuras IV.92 a IV.95 muestran secciones longitudinales de músculo *biceps femoris* de jamón curado “D.O. Teruel”. En estas secciones se observa ya una importante alteración de la estructura miofibrilar, producto de una intensa proteólisis junto con la pérdida de humedad que tiene lugar durante el proceso. Estos fenómenos conducen a la desnaturalización y compactación del tejido; así, los componentes estructurales del sarcómero se observan degradados y desorganizados en el interior de las células musculares (Fig. IV.92). Hay que destacar la degradación de las proteínas asociadas a los discos Z, que constituyen la denominada línea N₂ (titina y nebulina). Estos discos Z ya no aparecen alineados (Fig. IV.93), aunque mantienen su integridad estructural, lo que también es concordante con otros trabajos (Taylor et al., 1995; Chiung et al., 1996; Koomahrie, 1991), en los que se comprueba que las principales proteínas de los discos Z (α -actina y α -actinina) no se degradan durante el almacenamiento postmortem.

En la figura IV.94 se aprecia, en corte longitudinal, una sección de una célula muscular superficial del jamón en contacto con el exterior, y se observa el espacio intercelular repleto de una gran variedad de productos que se han acumulado a lo largo del proceso, fundamentalmente por la proteólisis. La membrana o sarcolema ha desaparecido totalmente, y el paquete miofibrilar se encuentra en contacto con estos solutos acumulados en los espacios intercelulares (Fig. IV.95).

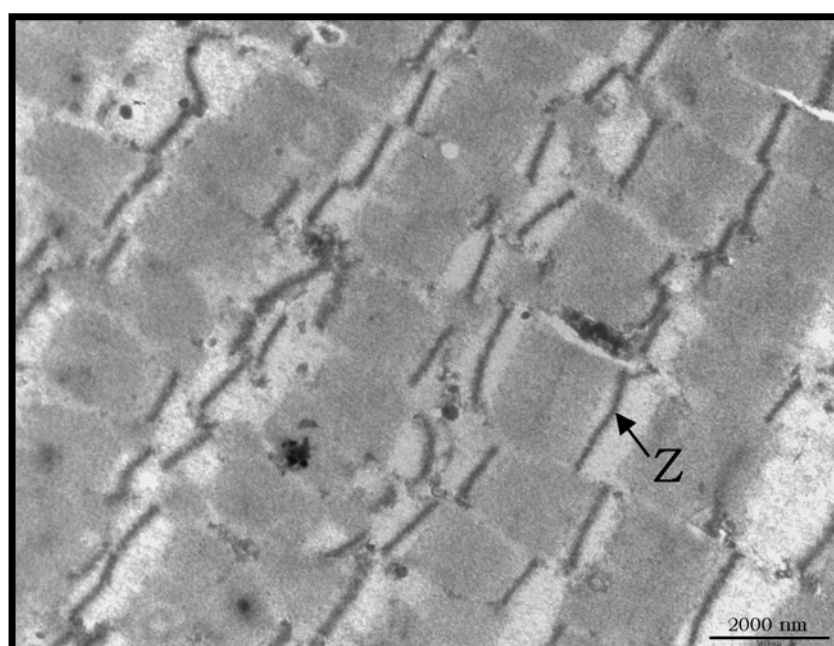


Figura IV.92. Sección longitudinal de músculo *biceps femoris* de jamón curado "D.O. Teruel". Discos Z (Z). 10.000x (TEM).

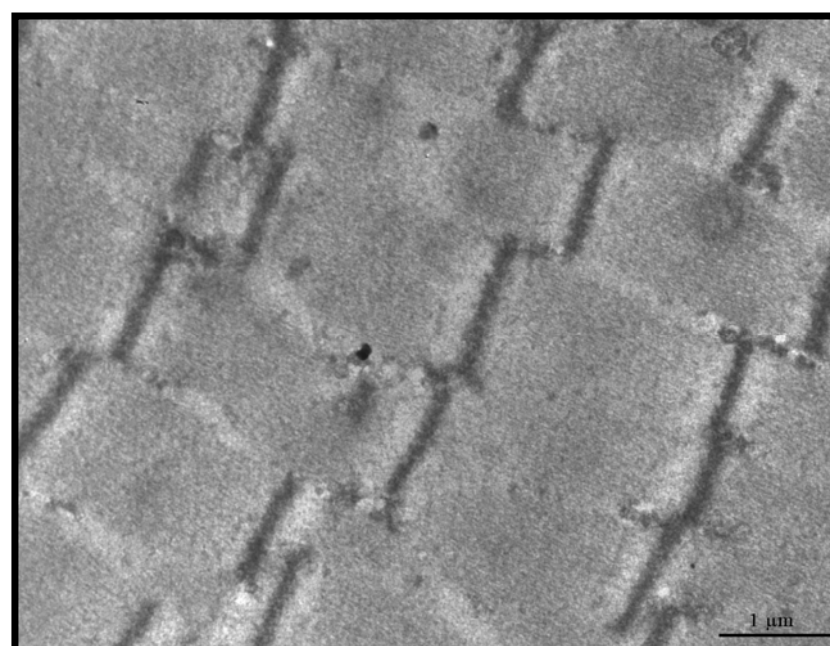


Figura IV.93. Sección longitudinal de músculo *biceps femoris* de jamón curado "D.O. Teruel". 20.000x (TEM).

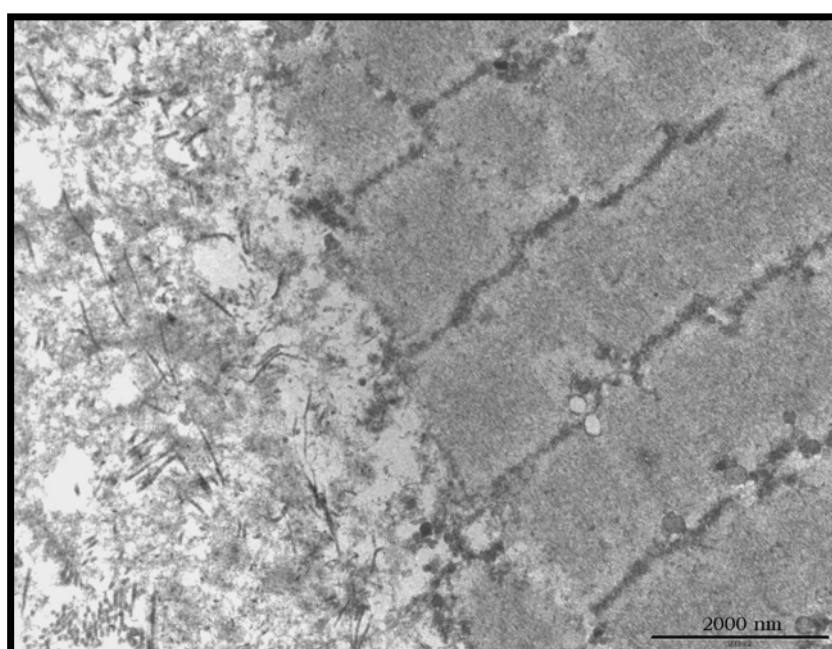


Figura IV.94. Sección longitudinal de músculo *biceps femoris* de jamón curado "D.O. Teruel". 15.000x (TEM).

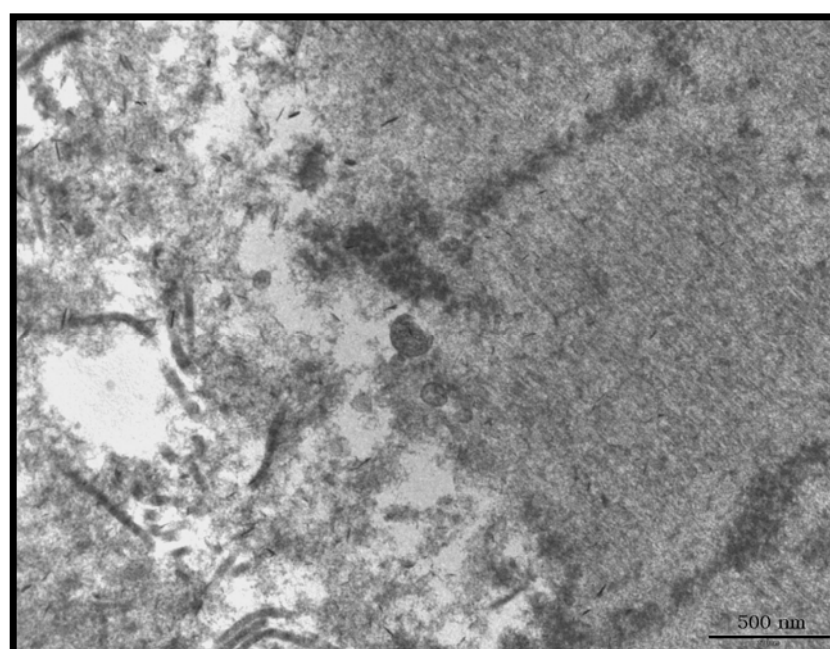


Figura IV.95. Sección longitudinal de tejido muscular de jamón curado "D.O. Teruel". 40.000x (TEM).

IV.5. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SALINA DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE JAMÓN CURADO “D.O. TERUEL”

IV.5.1. ANÁLISIS DE CLORURO SÓDICO POR POTENCIOMETRÍA

Las sales se utilizan en la etapa de salado en la elaboración del jamón curado. El salado constituye la primera fase de estabilización del producto, implica una reducción de la cantidad de agua disponible, al elevar la fuerza iónica del medio y produce un aumento de la solubilidad de las proteínas musculares, favoreciendo así la manifestación de sus propiedades tecnológicas.

Se estudia la distribución de la sal a diferentes profundidades en el pernil y el jamón curado, para ello cada loncha estudiada se divide en diferentes zonas tal y como se detalla en el apartado III.2.3 de Material y Métodos, y se determinan las concentraciones de NaCl en las zonas Norte, Sur, Este y Oeste de cada músculo, respectivamente (Fig. III.2).

En la Tabla IV.23 se muestran los resultados de las concentraciones de NaCl, en los músculos *semimembranosus* y *biceps femoris*, para los pernils, antes de la etapa de salado.

Tabla IV.23. Contenido en NaCl en distintas zonas de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* en el pernil (g NaCl / 100 g muestra(b.h.)) (Desviación estándar: $\pm 0,01$).

| | NaCl (g NaCl/100g muestra (b.h.)) | | | |
|------------------------|-----------------------------------|------|------|-------|
| | NORTE | SUR | ESTE | OESTE |
| <i>biceps femoris</i> | 0.12 | 0.11 | 0.14 | 0.14 |
| <i>semimembranosus</i> | 0.12 | 0.12 | 0.14 | 0.11 |

Los análisis de cloruros efectuados en los pernils, muestran que no existen diferencias significativas de NaCl entre las diferentes zonas estudiadas de cada músculo; el contenido medio de sal es de 0.13 % para el *biceps femoris*, y 0.12 % para el *semimembranosus*, con una desviación estándar de ± 0.01 .

Si se expresan los resultados en base seca (g NaCl / 100 g muestra seca), con los resultados medios de humedad expuestos en el apartado IV.1, obtenemos unos valores de 0.50 % para el *biceps femoris* y 0.49 % para el *semimembranosus*, no apreciándose diferencias significativas entre ambos músculos antes de la etapa de salado.

Estos resultados coinciden con diversos autores como Monin et al. (1997), Martín et al. (1998b) y León-Crespo et al. (1991). Incluso algunos autores, han considerado que éstas cantidades iniciales de cloruros son tan bajas en los pernils que pueden considerarse como despreciables para su posterior estudio de difusión de sales (Sayas-Barbera, 1997; Iriarte et al., 1993, Pérez-Álvarez et al., 1997; Ventanas, J. et al., 1989).

Para el estudio de la distribución de sal en las diferentes zonas de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del jamón curado, se han realizado determinaciones en diferentes lonchas transversales al eje principal del jamón, y de cada una se ha seleccionado diferentes zonas como se detalla en el apartado III.2.3 de Material y Métodos; así, se han determinado las concentraciones de NaCl de las lonchas 5, 6 y 7 para cada zona Norte, Sur, Este y Oeste, en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, respectivamente (Fig. III.2).

Los resultados de la concentración de cloruros por lonchas determinados en el músculo *biceps femoris* de jamón curado “D.O. Teruel” se expresan en la Tabla IV.24, y su comparación en las distintas zonas de cada loncha se observan en la figura IV.96.

Tabla IV.24. Contenido en NaCl (g NaCl / 100 g muestra (b.h.)) en las lonchas 5, 6, 7 del músculo *biceps femoris*, en el jamón curado “D.O. Teruel” (Desviación estándar: $\pm 0,01$).

| | NaCl (g de NaCl/100g muestra (b.h.)) | | | |
|-----------------------|--------------------------------------|------|------|-------|
| | NORTE | SUR | ESTE | OESTE |
| <i>biceps femoris</i> | | | | |
| LONCHA 5 | 7.05 | 7.12 | 6.98 | 6.54 |
| LONCHA 6 | 7.18 | 7.08 | 7.24 | 6.73 |
| LONCHA 7 | 6.88 | 6.69 | 6.81 | 5.91 |

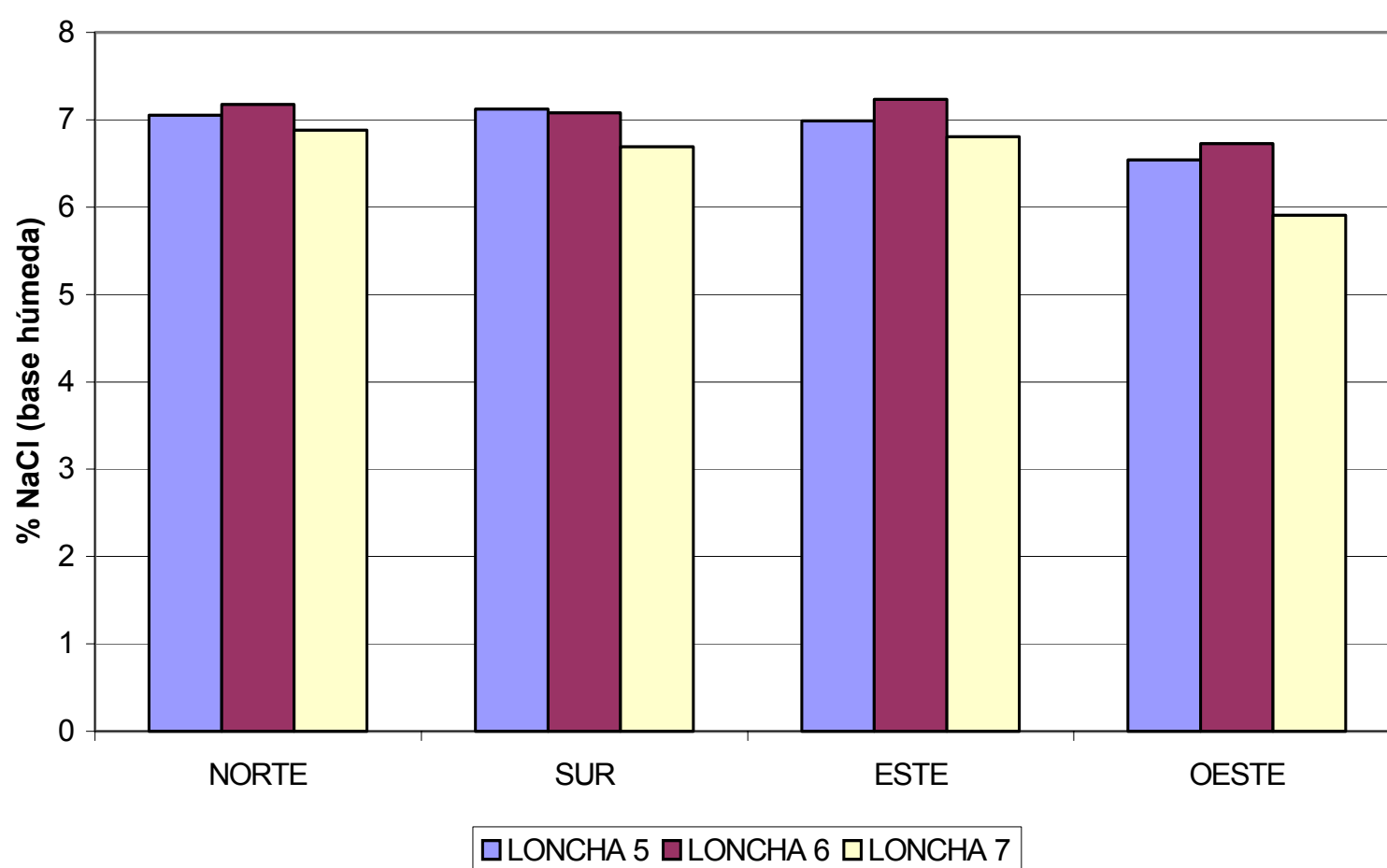


Figura IV.96. Valores experimentales de la concentración de NaCl (g NaCl / 100 g de muestra (b.h.)), en las distintas zonas de las lonchas 5, 6 y 7 del músculo *biceps femoris* en el jamón “D.O. Teruel”.

Los valores de NaCl en las tres lonchas estudiadas en el *biceps femoris* oscilan de 6 a 7 % de NaCl (g NaCl / 100 g de muestra (b.h.)), siendo ligeramente superiores en las lonchas 5 y 6, por estar ubicadas donde más fácilmente puede difundirse la sal por su localización espacial (Fig. III.2 de Material y Métodos), de todas maneras no presentan diferencias significativas.

Los valores de NaCl en el músculo estudiado están en consonancia con los de otros autores consultados (Sayas-Barbera, 1997; Lozano et al., 1998; Arnau et al., 1995; Virgili et al., 1995).

Los valores de NaCl para el músculo *semimembranosus* en jamón curado “D.O. Teruel” quedan reflejados en la tabla IV.25, y su comparación en las distintas zonas de cada loncha se observa en la Fig. IV.97; los valores medios de la concentración de sal son significativamente inferiores a los determinados para el *biceps femoris*, lo que concuerda con los datos disponibles en bibliografía (Sayas-Barbera, 1997, Virgili et al., 1995, Monin et al., 1997., Arnau et al., 1995).

Tabla IV.25. Contenido en NaCl (g NaCl / 100 g muestra) en las lonchas 5, 6, 7 del músculo *semimembranosus* en el jamón curado “D.O. Teruel” (Desviación estándar: $\pm 0,01$).

| | % NaCl (g de NaCl/100g muestra (b.h.)) | | | |
|------------------------|--|------|------|-------|
| | NORTE | SUR | ESTE | OESTE |
| <i>semimembranosus</i> | | | | |
| LONCHA 5 | 5.01 | 5.12 | 4.96 | 4.88 |
| LONCHA 6 | 4.83 | 5.01 | 4.12 | 4.04 |
| LONCHA 7 | 5.47 | 5.57 | 5.72 | 5.43 |

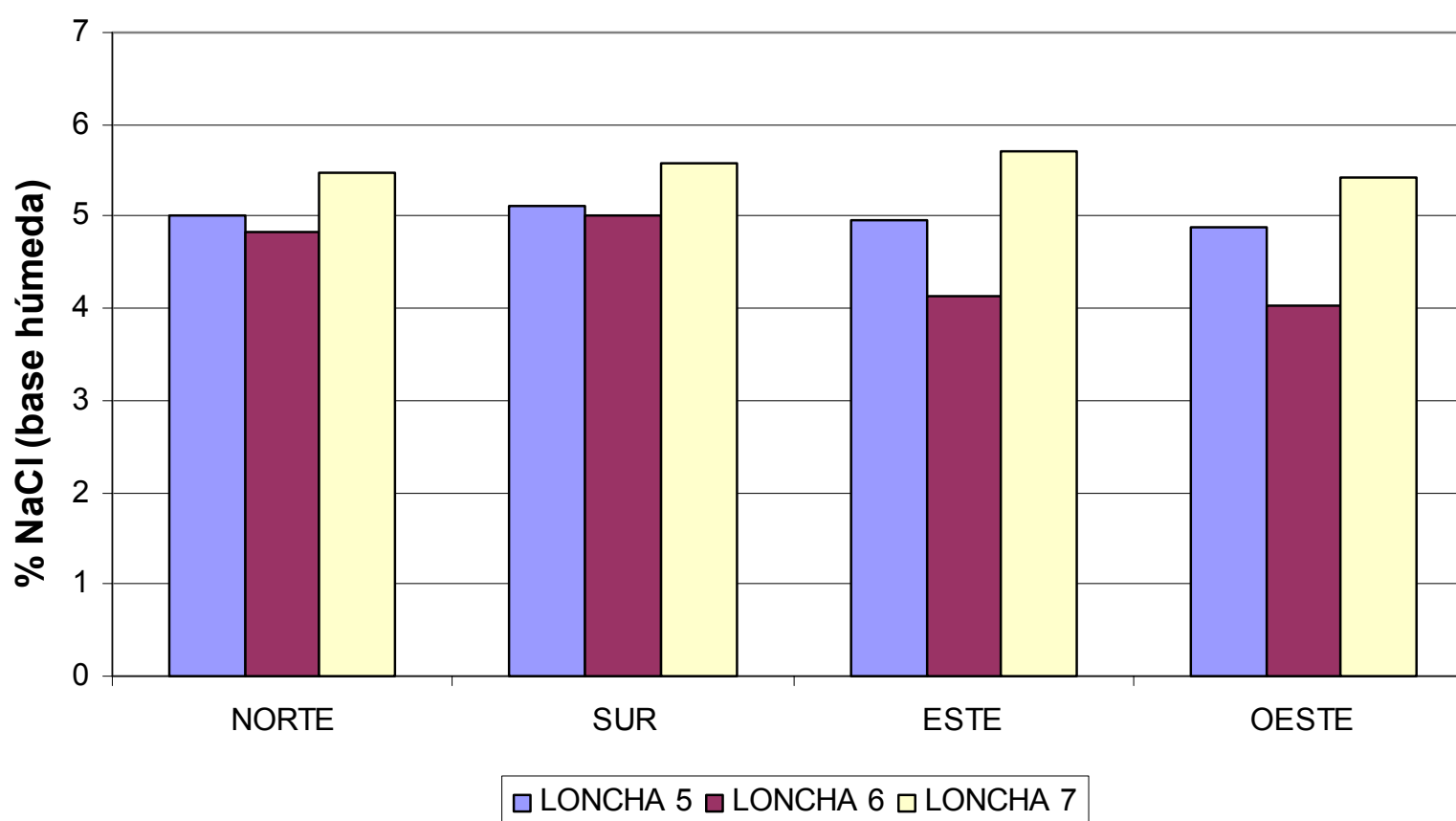


Figura IV.97. Valores experimentales de la concentración de NaCl (g NaCl / 100 g de muestra (b.h.)), en las distintas zonas de las lonchas 5, 6 y 7 del músculo *semimembranosus* en el jamón “D.O. Teruel”.

Así pues, como resumen de todo lo anterior, la concentración media de NaCl en el músculo *semimembranosus* es del 5 % en base húmeda, frente al valor de entre 6.5-7 % del *biceps femoris*.

Según Arnau et al. (1995), la concentración de cloruro sódico (en materia seca) en el músculo *semimembranosus* disminuye durante la maduración, debido a la migración de su sal hacia los músculos más húmedos, y así, se produciría un incremento en la concentración de sal en los músculos *biceps femoris*, *semitendinosus*, *vastus lateralis* y *gastrocnemius* debido a la mayor humedad que presentan, la cual facilitaría la disolución de NaCl.

De ahí que la concentración de sales en los jamones varíe a lo largo del proceso, tal y como también se comprueba en este trabajo para el jamón curado “D.O. Teruel” (aptdo. IV.1.2), debido a la penetración de la sal desde las capas externas, por ejemplo el músculo *semimembranosus*, hacia las zonas internas y más húmedas como el músculo *biceps femoris*.

La diferencia de concentración de NaCl en las distintas zonas estudiadas para los jamones curados se hace más evidente si se comparan los resultados expresados en porcentaje de base seca; y así, para el *biceps femoris*, el contenido de NaCl en jamón curado “D.O. Teruel” es de 15.83 % de NaCl y de 9.59 % de NaCl para el *semimembranosus*. Estos resultados se han expresado en la Tabla IV.26.

Tabla. IV.26. Contenido en NaCl (g NaCl / 100 g de muestra (b.s.)) en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, en el jamón curado “D.O. Teruel” (X: valor medio, S: desviación estándar).

| | NaCl (g NaCl / 100g muestra (b.s.)) | | | |
|---------|-------------------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|
| | JAMÓN | | PERNIL | |
| Músculo | <i>biceps femoris</i> | <i>semimembranosus</i> | <i>biceps femoris</i> | <i>semimembranosus</i> |
| X | 15.83 | 9.59 | 0.50 | 0.49 |
| S | ± 0.73 | ± 1.42 | ± 0.04 | ± 0.03 |

Con el fin de dar una visión conjunta de todos los resultados anteriores, se presenta la figura IV.98, donde se refleja la distribución salina en las distintas zonas de los músculos estudiados.

Como se puede apreciar en la figura IV.98 la distribución de cloruros y de NaCl en el pernil es bastante homogénea, no existen muchas diferencias entre los músculos estudiados. Sin embargo, en el jamón ya elaborado, la diferencia de las concentraciones entre el *biceps femoris* y el *semimembranosus* nos da una idea de la distribución de las sales de curado durante el proceso de elaboración. Inicialmente el *semimembranosus* es el de mayor contenido de sal, ya que éste está directamente en contacto con las sales de curado, mientras que en el *biceps femoris* la gruesa capa de tocino que lo recubre actúa como barrera inicial para la penetración directa de sal. Sin embargo al final del proceso se produce una difusión de las sales de curado hacia el interior de la pieza, hacia músculos más húmedos, y por este motivo el músculo *biceps femoris* alcanza concentraciones salinas más elevadas.

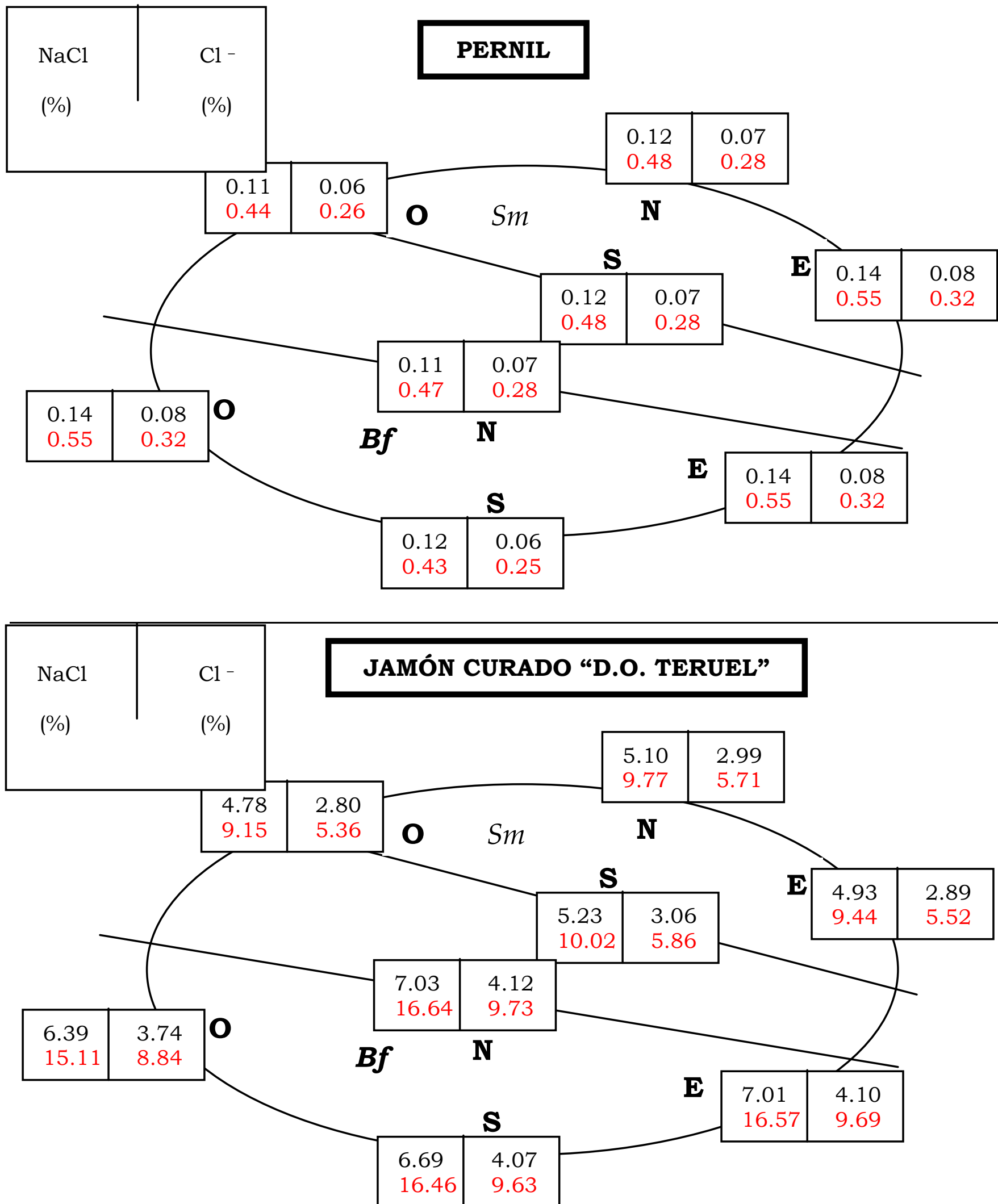


Figura IV.98. Distribución de la concentración de iones Cl⁻ y NaCl (b.h. y b.s.) en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de un corte transversal de pernil y jamón curado "D.O. Teruel". (N: Norte; S: Sur; E: este y O: Oeste).

IV.5.2. MICROANÁLISIS POR EDX

IV.5.2.1. Microanálisis de cloruros por SEM-EDX

El estudio de penetración de la sal a distintos niveles de profundidad en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de los perniles y jamones curados también se ha realizado por microanálisis SEM-EDX (*Energy Dispersive Spectrometry X-Ray*), lo cual ha permitido obtener los resultados experimentales que se presentan y discuten a continuación.

El microanálisis por EDX, como se describe en el apartado III.2.6.5. del capítulo Material y Métodos, se ha realizado mediante SEM convencional, ya que el microscopio JEOL 6300 está dotado de detector para rayos X y sistema LINK para su procesado; en dicho apartado se indican los átomos que se analizan y se explica el protocolo seguido.

Para el estudio de la distribución de sal en las diferentes lonchas del pernil y del jamón por microanálisis SEM-EDX (aptdo. III.2.6.5 de Material y Métodos), también se ha utilizado la metodología de muestreo seguida para el análisis de cloruros convencional expuesto en el apartado anterior. Las lonchas se dividen en diferentes zonas: Norte, Sur, Este y Oeste, y se determina las concentraciones de los átomos cloro, potasio, azufre, sodio y fósforo en cada una de ellas.

No se ha encontrado referencias bibliográficas sobre esta técnica de microanálisis aplicada al estudio de distribución de las sales de curado en jamones.

A título de ejemplo, se muestran unos espectros del microanálisis SEM-EDX (Fig. IV.99) obtenidos de los músculos *semimembranosus* y *biceps femoris*, para los perniles y para el jamón curado “D.O. Teruel”. Nótese la diferencia sensible en la intensidad de los picos correspondientes a los átomos de cloro y sodio en los perniles y en el jamón, que evidencian la ganancia salina durante el proceso de curado.

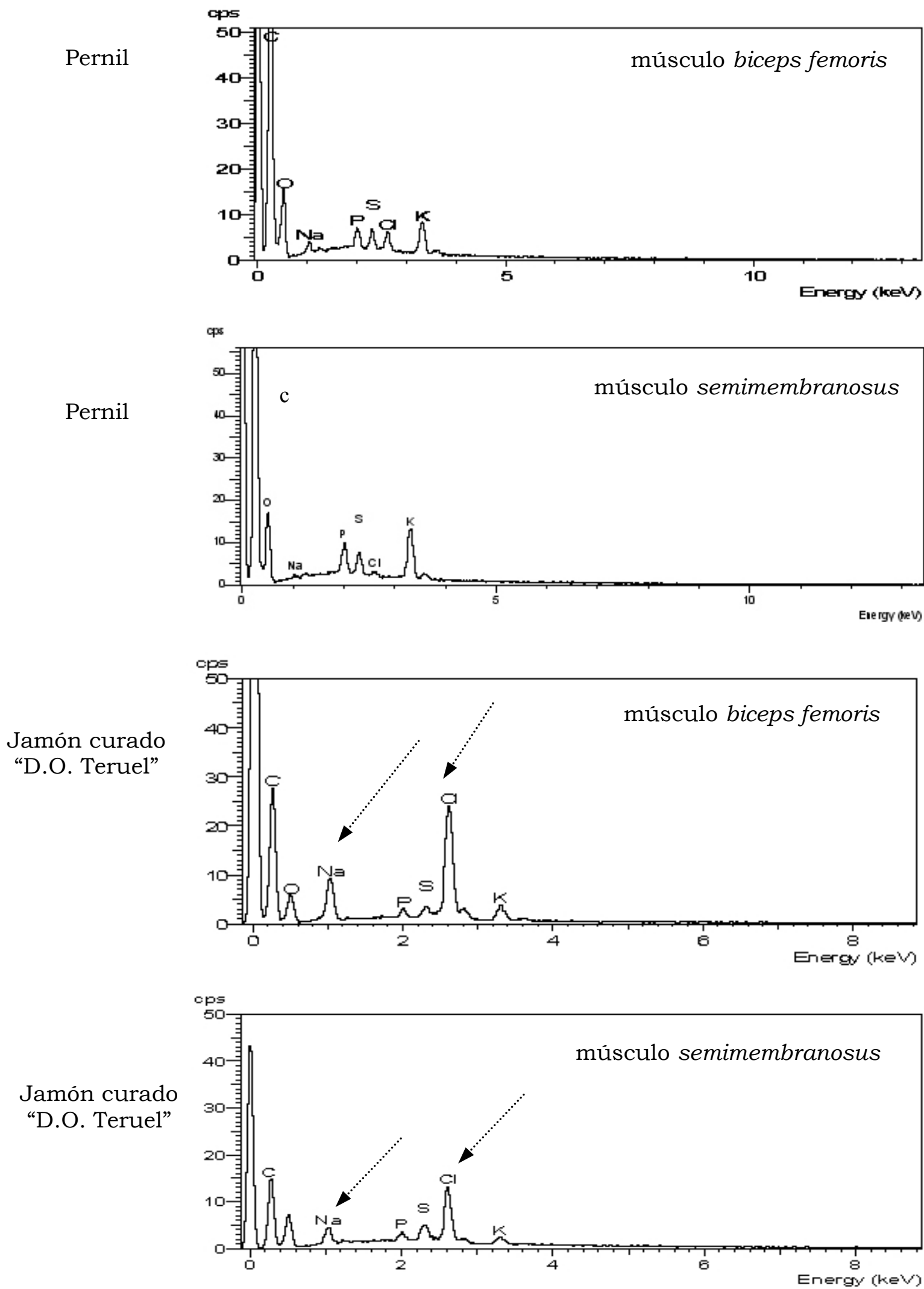


FIGURA IV.99. Espectro de microanálisis SEM-EDX realizado en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del pernil y jamón curado "D.O. Teruel".

cps: unidades de cuenta del sistema LINK, referido a la intensidad de emisión EDX de cada uno de los átomos detectados.

En la Tabla IV.27 se muestran los resultados de las concentraciones de iones Cl⁻, en los músculos *semimembranosus* y *biceps femoris*, para los pernils; estos resultados se han obtenido asumiendo que la totalidad de los átomos analizados e pueden corresponder con la “base seca”.

Los valores del contenido medio en Cl⁻ en los pernils han sido de 0.71% y de 0.47% para el *biceps femoris* y el *semimembranosus*, respectivamente.

TABLA IV.27. Contenido en Cl⁻ (g Cl⁻ / 100 g muestra (b.s.)) en distintas zonas de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil, determinado por microanálisis SEM-EDX (X: valor medio, S: desviación estándar).

| | Cl ⁻ (g de Cl ⁻ /100 g muestra (b.s.)) | | | |
|----------------|--|------------|-------------|--------------|
| <i>Músculo</i> | <i>biceps femoris</i> | | | |
| | Norte | Sur | Este | Oeste |
| X | 0.99 | 0.72 | 0.59 | 0.55 |
| S | ± 0.15 | ± 0.15 | ± 0.12 | ± 0.12 |
| <i>Músculo</i> | <i>semimembranosus</i> | | | |
| | Norte | Sur | Este | Oeste |
| X | 0.60 | 0.43 | 0.46 | 0.38 |
| S | ± 0.19 | ± 0.14 | ± 0.17 | ± 0.15 |

Como ya se ha indicado en el apartado II.2.6.5 del capítulo de Material y Métodos para el microanálisis SEM-EDX, la muestra se recubre de carbono, para mejorar la transferencia electrónica y para optimizar la captación de rayos X de los demás elementos de la muestra, que estaría limitada si se utilizara otro metal de recubrimiento. Por lo tanto al cuantificar las unidades de cuenta de emisión de rayos X se debe corregir el espectro obtenido para el carbono, y distinguir entre el carbono endógeno propio de la muestra y el carbono exógeno de recubrimiento.

En un trabajo anterior (Massa, et al., 1998), se determinó este factor de corrección entre el carbono de la muestra y el carbono de recubrimiento, utilizando una matriz de zanahoria encurtida cuyo contenido en cloruros estaba aproximadamente en el mismo orden de magnitud que el jamón objeto de este estudio. Estos autores encontraron que el carbono de recubrimiento supone el 36.5 % de carbono total de la muestra, valor que se toma ahora en el presente estudio como cifra de partida. No obstante, para una mayor precisión, sería necesario determinar en posteriores estudios, cuál sería el carbono de recubrimiento si se utilizara como material subyacente el específicamente implicado en las muestras de pernil y de jamón curado “D.O. Teruel”.

Realmente, como puede observarse (Fig. IV.100), los valores (g Cl⁻ / 100 g muestra (b.s.)) en pernil son muy pequeños tanto en *biceps femoris* como en *semimembranosus* y no existen diferencias significativas ni entre ambos, ni dentro de cada uno de los músculos entre las distintas zonas estudiadas, de las que se han obtenido su representación.

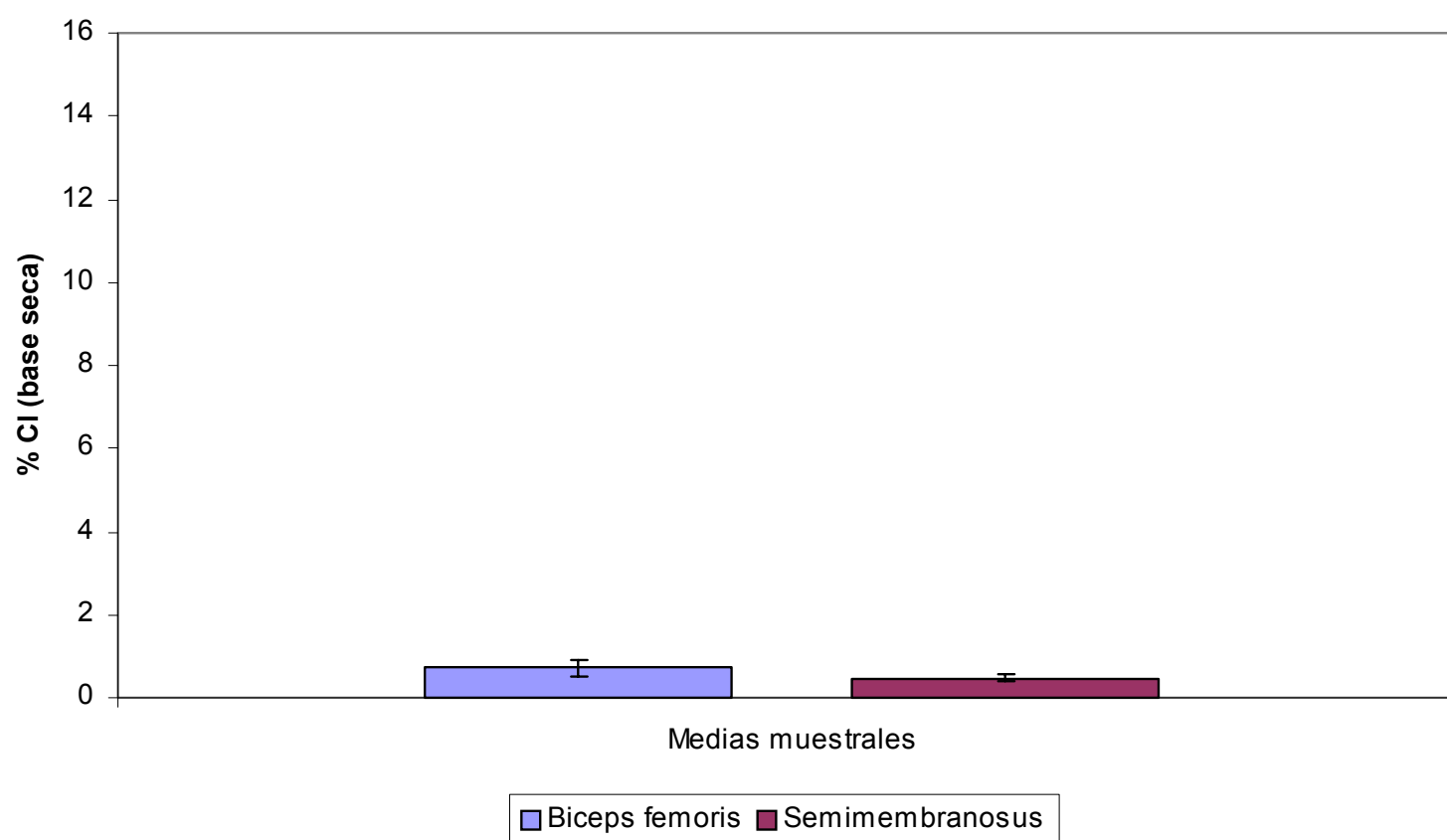


FIGURA IV.100. Comparación de los valores promedio de microanálisis SEM-EDX del porcentaje de Cl⁻ en el músculo *semimembranosus* y *biceps femoris* del pernil (g Cl⁻ / 100 g muestra (b.s.)).

Estos resultados son del mismo orden a los encontrados por autores como Monin et al. (1997) y Martín et al. (1998b). Algunos autores, sin embargo, han considerado las cantidades iniciales de cloruros en los perniles despreciables para su posterior estudio de difusión de sales (Sayas-Barbera, 1997; Iriarte et al., 1993, Pérez-Álvarez et al., 1997; Ventanas, et al., 1989), como ya se ha comentado en el apartado IV.7.1.

En la tabla IV.28 se muestran los resultados de las concentraciones de Cl⁻, en los músculos *semimembranosus* y *biceps femoris*, para los jamones curados “D.O. Teruel”.

Tabla IV.28. Determinación por microanálisis SEM-EDX de los valores medios de los porcentajes de Cl⁻ en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del jamón curado “D.O. Teruel” (b.s.) (X: valor medio, S: desviación estándar).

| | Cl ⁻ (g de Cl ⁻ /100g muestra (b.s.)) | | | |
|------------------------|---|------------|-------------|--------------|
| <i>biceps femoris</i> | Norte | Sur | Este | Oeste |
| X | 12.45 | 9.38 | 10.57 | 10.74 |
| S | ± 2.09 | ± 1.97 | ± 2.03 | ± 3.69 |
| | Cl ⁻ (g de Cl ⁻ /100g muestra (b.s.)) | | | |
| <i>Semimembranosus</i> | Norte | Sur | Este | Oeste |
| X | 5.52 | 5.95 | 7.83 | 9.95 |
| S | ± 1.48 | ± 1.11 | ± 1.31 | ± 2.36 |

La concentración media de cloruros para el músculo *biceps femoris* (Fig. IV.101) es de 10.79 % (b.s.), con una desviación estándar de ± 1.70. Se observan valores superiores de cloruros en la zona Norte respecto de las demás zonas (tabla IV.28), como consecuencia de la localización del músculo. En efecto, la zona Norte sería donde se acumularía mayor cantidad de sales a donde llegarían por difusión desde los músculos más externos como el *semimembranosus*; la difusión directa de la sal

desde el exterior hasta el músculo *biceps femoris* lógicamente estaría frenada por la barrera adicional que suponen la piel y el tejido adiposo o grasa asociada a este músculo.

El músculo *semimembranosus* (Fig. IV.101) tiene una concentración media de cloruros del 7.31 % (b.s.) y una desviación estándar de ± 2.02 , lo que supone un descenso notable con respecto a la concentración de cloruros del músculo *biceps femoris*.

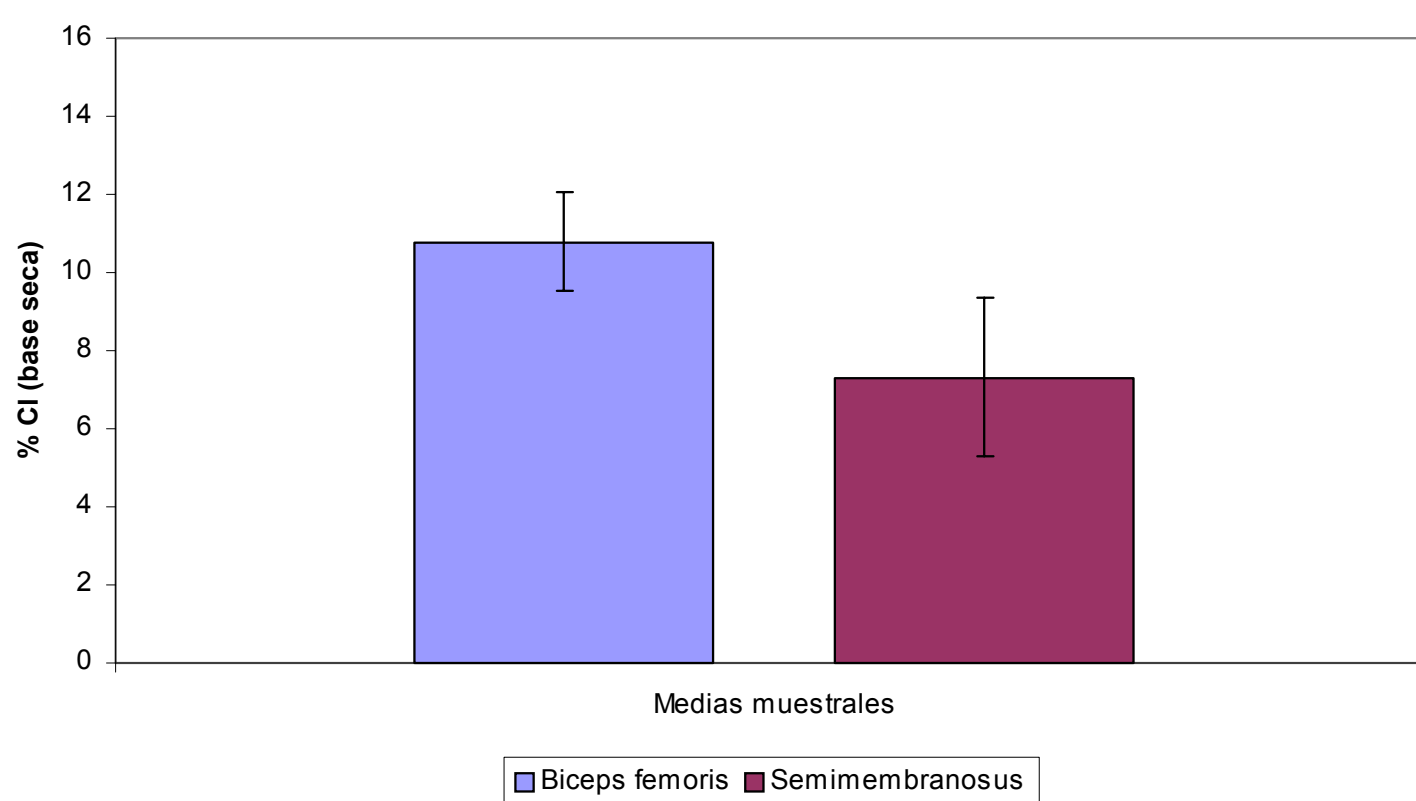


FIGURA IV.101. Comparación de los valores promedio de microanálisis SEM-EDX del porcentaje de Cl⁻ en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del jamón curado “D.O. Teruel” (g Cl⁻ / 100 g muestra (b.s.)).

Estos resultados están en concordancia con los de Arnau et al. (1995), que indica que la concentración de cloruro sódico (en base seca) en el músculo *semimembranosus* disminuye durante la maduración debido a la migración de sal hacia los músculos más húmedos; y así, esta migración produciría un incremento en la concentración de sal en el músculo *biceps femoris*, donde su mayor humedad facilita la disolución de la sal, y donde el tejido adiposo subcutáneo y la piel suponen una barrera final para la circulación de materiales.

Respecto a la concentración de cloruros en las diferentes zonas del jamón curado del músculo *semimembranosus* (tabla IV.28), es menor en la zona Norte, que está en la zona más externa y desprotegida de la piel y del tejido adiposo o capa gruesa de tocino que tiene el *biceps femoris*. Aquella zona Norte, por tanto, pierde humedad con más facilidad, y se produce una difusión salina hacia las zonas más húmedas y por tanto más profundas. Por el contrario la zona Oeste del músculo *semimembranosus*, que se introduce ligeramente hacia el interior del jamón, presenta un ligero mayor contenido salino y la explicación sería análoga a la dada para el músculo *biceps femoris*: las zonas más profundas retienen mayor contenido de agua y hacia ellas difunden y quedan retenidas las sales.

IV.5.2.2. Estudio comparativo de la determinación de Cl⁻ por microanálisis SEM-EDX, y por el método potenciométrico

Respecto a la comparación de los resultados de la determinación de Cl⁻ por microanálisis SEM-EDX con los obtenidos por el método de la argentometría potenciométrica (aptdo. IV.5.1) hay que comentar que globalmente no existen discrepancias muy notables entre ambos grupos de resultados (Fig. IV.102); sin embargo habría que profundizar más en estos estudios para poder establecer una pauta de comportamiento análoga que permita, en un futuro, utilizar la técnica de SEM-EDX como una clara referencia y todo ello es lo que se trata de comentar aquí y en los próximos apartados IV.5.2.3 y IV.5.2.4.

En cuanto a los resultados correspondientes a la concentración de NaCl en el pernil (b.s.), hay que comentar que se detectan cantidades algo superiores por microanálisis SEM-EDX que por el método potenciométrico; esta diferencia es más acusada para el *biceps femoris*: 1.17 % NaCl por SEM-EDX, frente al 0.49 % de NaCl en base seca por método potenciométrico. En el músculo *semimembranosus* los resultados son más similares: 0.77 % NaCl para SEM-EDX frente el 0.47 % NaCl para la técnica potenciométrica.

Respecto a los valores de concentración de NaCl en jamón curado “D.O. Teruel” en base seca, también son ligeramente superiores los correspondientes al microanálisis SEM-EDX que los obtenidos en el análisis potenciométrico. Para el *biceps femoris* un 17.78 % NaCl (b.s.) por SEM-EDX, frente al 15.83 % (b.s.) NaCl por el método potenciométrico. En el músculo *semimembranosus* los resultados encontrados son 9.06 % por la técnica potenciométrica y 12.04 % por SEM-EDX. Hay que resaltar que los valores obtenidos por SEM-EDX se aproximan más a resultados de los estudios de Arnau et al. (1995), para diferentes músculos de jamones curados y de carnes PSE.

Posiblemente las discrepancias encontradas entre los resultados aportados por ambas técnicas pueden ser atribuidos a la distinta base de referencia que ya se ha comentado: “base seca” para el método potenciométrico, frente a “totalidad de átomos analizados” para el método SEM-EDX.

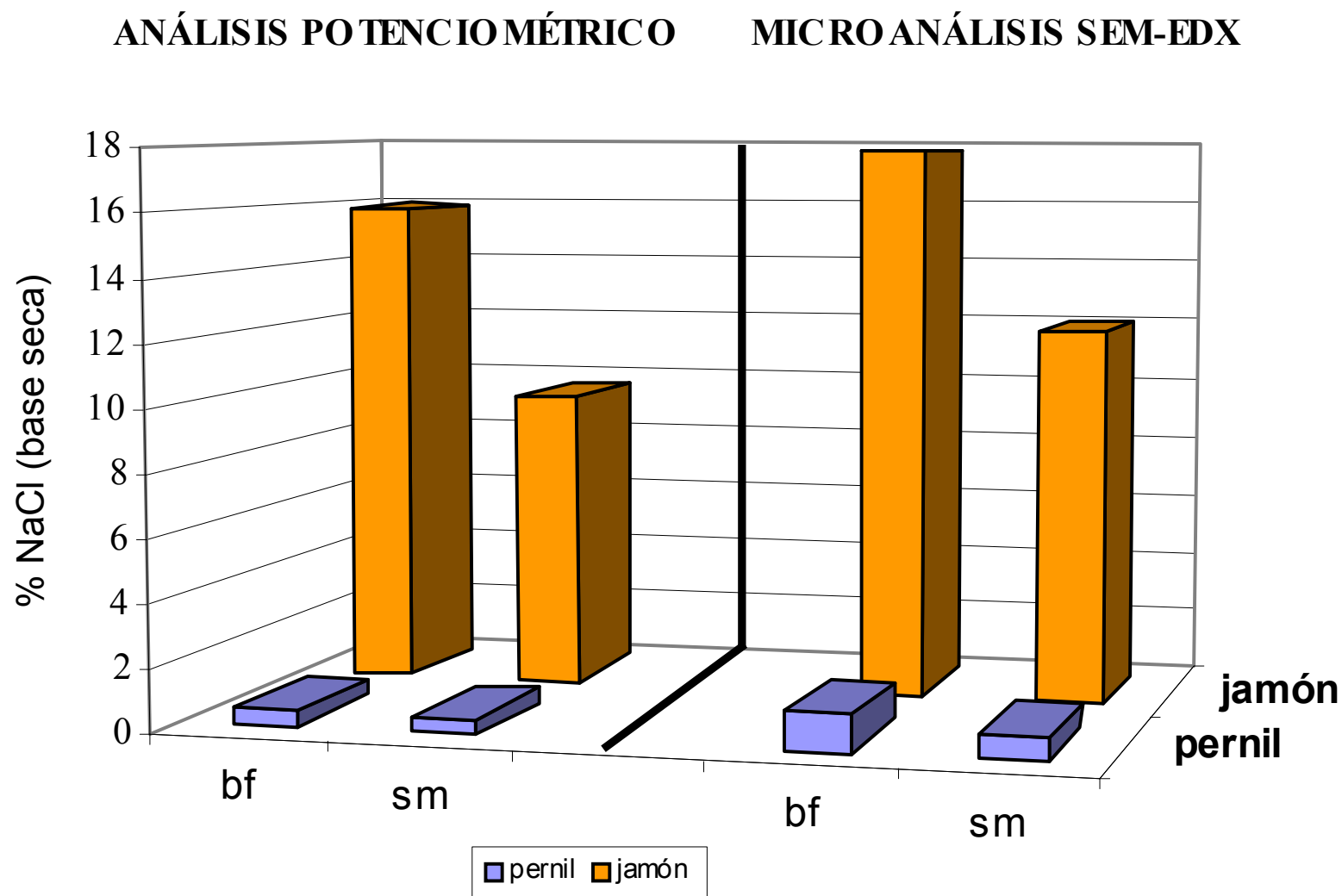


FIGURA IV.102. Análisis comparativo entre los resultados obtenidos por la técnica de microanálisis SEM-EDX y la técnica potenciométrica, para el análisis de la concentración de NaCl en pernil y en jamón curado “D.O. Teruel” (g NaCl / 100 g muestra (b.s.)). (bf: *biceps femoris* sm: *semimembranosus*)

IV.5.2.3. Estudio de los cocientes atómicos Cl / P+S por SEM-EDX

En este apartado se determinan las proporciones de cloruros referidas a las proporciones de fósforo y azufre detectados por microanálisis SEM-EDX. El estudio de los cocientes o proporciones se ha realizado con el objetivo de encontrar una herramienta analítica potente y elegante, que a partir de la determinación de un menor número de átomos, permita encontrar una evolución analítica coherente. Con ello se podrían obtener, a partir de pocos ensayos, conclusiones fiables. Además se podría así obviar el problema de la base de cálculo, ya que el incremento de sal y la pérdida de solutos por drenaje modifican constantemente la “base seca” como referencia de cálculo.

La elección del cociente fósforo más azufre, se justifica porque el azufre es un elemento abundante en la fracción proteica, ya que forma parte de los aminoácidos metionina, cisteína y cistina. El fósforo, por su parte, aparece en los fosfolípidos que constituyen las membranas celulares.

Por lo tanto la determinación de azufre y fósforo podría proporcionar una referencia global de los elementos estructurales del músculo esquelético de los animales, de modo que el cociente “fósforo + azufre” presumiblemente evolucionará conforme evoluciona la microestructura del tejido, y de modo que el nivel de cloruros pueda valorarse en base a esa pauta de referencia.

En las tablas IV.29 y IV.30 se expresan los cocientes Cl /P+S del pernil y del jamón curado “D.O. Teruel”, tanto para el músculo *biceps femoris* como para el *semimembranosus*.

Las diferencias entre las diferentes zonas analizadas no son significativas en ambos músculos; solamente en la zona Norte en *biceps femoris* se calcula una mayor concentración del cociente que en las demás zonas (Figura IV.103), aun así el valor es muy pequeño si se compara con los valores que se obtienen en el jamón como se discuten en los párrafos siguientes.

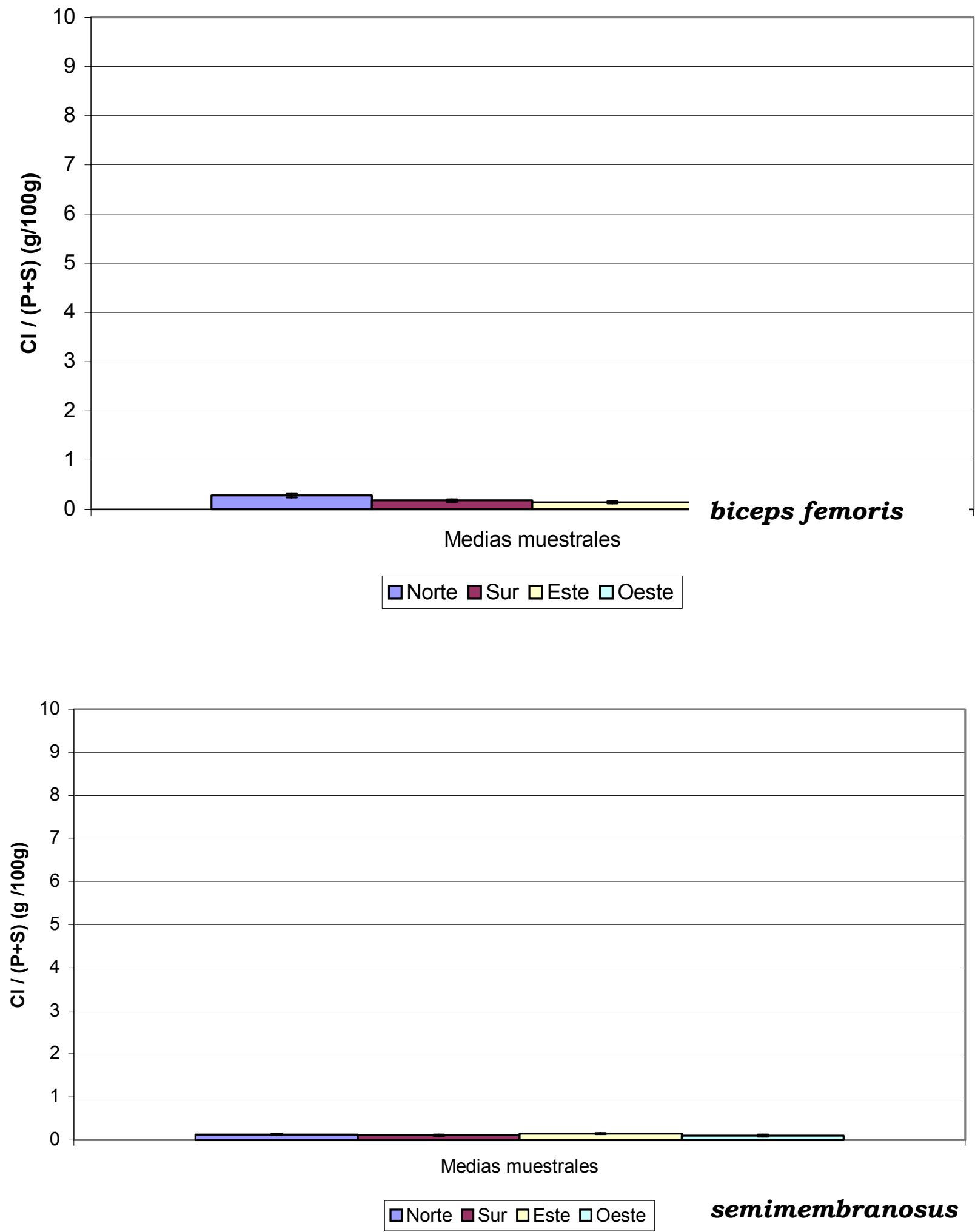


FIGURA IV.103. Valores promedio de microanálisis SEM-EDX del cociente de Cl/(P+S) (g / 100 g) en base seca en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del pernil.

Los resultados de los cocientes Cl / P+S que se han obtenido en pernil en el músculo *biceps femoris* y el *semimembranosus* se detallan en la Tabla IV.29.

Como se puede observar los valores de los cocientes en pernils dan valores medios similares tanto en un músculo como en otro, y se sitúa en un 0.19 g Cl / 100 g de (P+S) para el *biceps femoris*, y un 0.12 g Cl / 100 g de (P+S) para el *semimembranosus*. Estos resultados dan concentraciones más similares a las correspondientes de NaCl con análisis potenciométricos que las indicadas en el apartado IV.5.2.2. Para el músculo *biceps femoris* se calculan valores medios de concentración de NaCl de 0.31 g / 100 g de (P+ S), frente a los 0.49 g NaCl / 100 g de muestra (b.s.) obtenidos por el método potenciométrico. Lo mismo ocurre para el músculo *semimembranosus*, donde se calculan valores medios de concentración de NaCl de 0.20 g / 100 g de (P+ S), frente a los 0.49 g NaCl / 100 g de muestra (b.s.) obtenidos por el método potenciométrico.

Respecto a los resultados de los cocientes referentes al jamón curado “D.O. Teruel”, quedan expresados en la Tabla IV.30, en los dos músculos analizados.

Se puede apreciar que los valores medios de los cocientes en jamón curado son significativamente más elevados para el *biceps femoris* (6.08 g de Cl / 100 g de (P+S), con una desviación estándar de ± 0.75), que para el *semimembranosus* (3.75 g de Cl / 100 g de (P+S), con una desviación estándar de ± 0.89), lo cual de nuevo concuerda con lo publicado por otros autores sobre la mayor abundancia de sales en el músculo más interno que en el externo (Arnau et al., 1995, Monin et al., 1997, Fröystein, 1989) debido a la migración de sales hacia zonas más húmedas donde se facilita así la disolución de NaCl.

TABLA IV.29. Determinación por microanálisis SEM-EDX de los valores medios de Cl / P+S (g / 100 g) en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil.

| | Cl / (P+S) (g de Cl- / 100 g P+S) | | | |
|-------|--|------------|-------------|--------------|
| | Norte | Sur | Este | Oeste |
| | biceps femoris | | | |
| MEDIA | 0.28 | 0.18 | 0.14 | 0.16 |
| S | ± 0.04 | ± 0.03 | ± 0.02 | ± 0.01 |
| | semimembranosus | | | |
| MEDIA | 0.13 | 0.11 | 0.15 | 0.11 |
| S | ± 0.02 | ± 0.01 | ± 0.01 | ± 0.02 |

TABLA IV.30. Determinación por microanálisis SEM-EDX de los valores medios de Cl / P+S (g / 100 g) en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* en el jamón curado "D.O. Teruel".

| | Cl / (P+S) (g de Cl- / 100 g P+S) | | | |
|---|--|------------|-------------|--------------|
| | Norte | Sur | Este | Oeste |
| | biceps femoris | | | |
| X | 7.23 | 5.32 | 5.50 | 6.26 |
| S | ± 2.07 | ± 1.30 | ± 2.27 | ± 2.06 |
| | semimembranosus | | | |
| X | 3.10 | 2.92 | 3.55 | 5.47 |
| S | ± 0.35 | ± 1.03 | ± 0.44 | ± 3.35 |

Referente a las diferentes zonas de análisis del músculo (Figura IV.104), aunque aparentemente en la zona Norte de *biceps femoris* es donde se acumula mayor cantidad de sales, no se observan diferencias significativas entre las distintas zonas. En *semimembranosus* la sal se acumula principalmente en la zona Oeste a consecuencia de la localización y forma del músculo, que es la zona más interna y por tanto la que pierde menor cantidad de solutos; este resultado es concordante con el obtenido por el método potenciométrico.

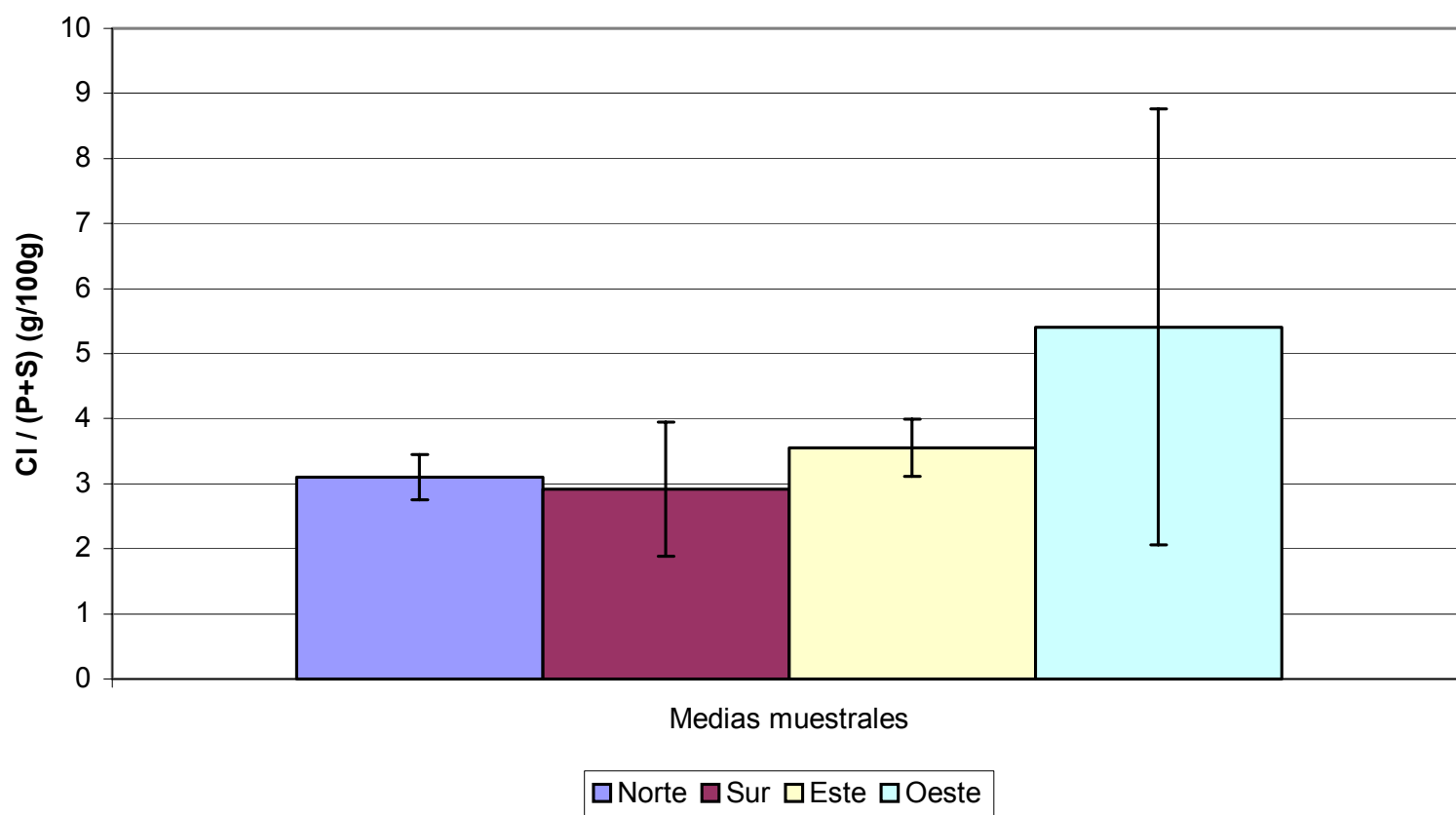
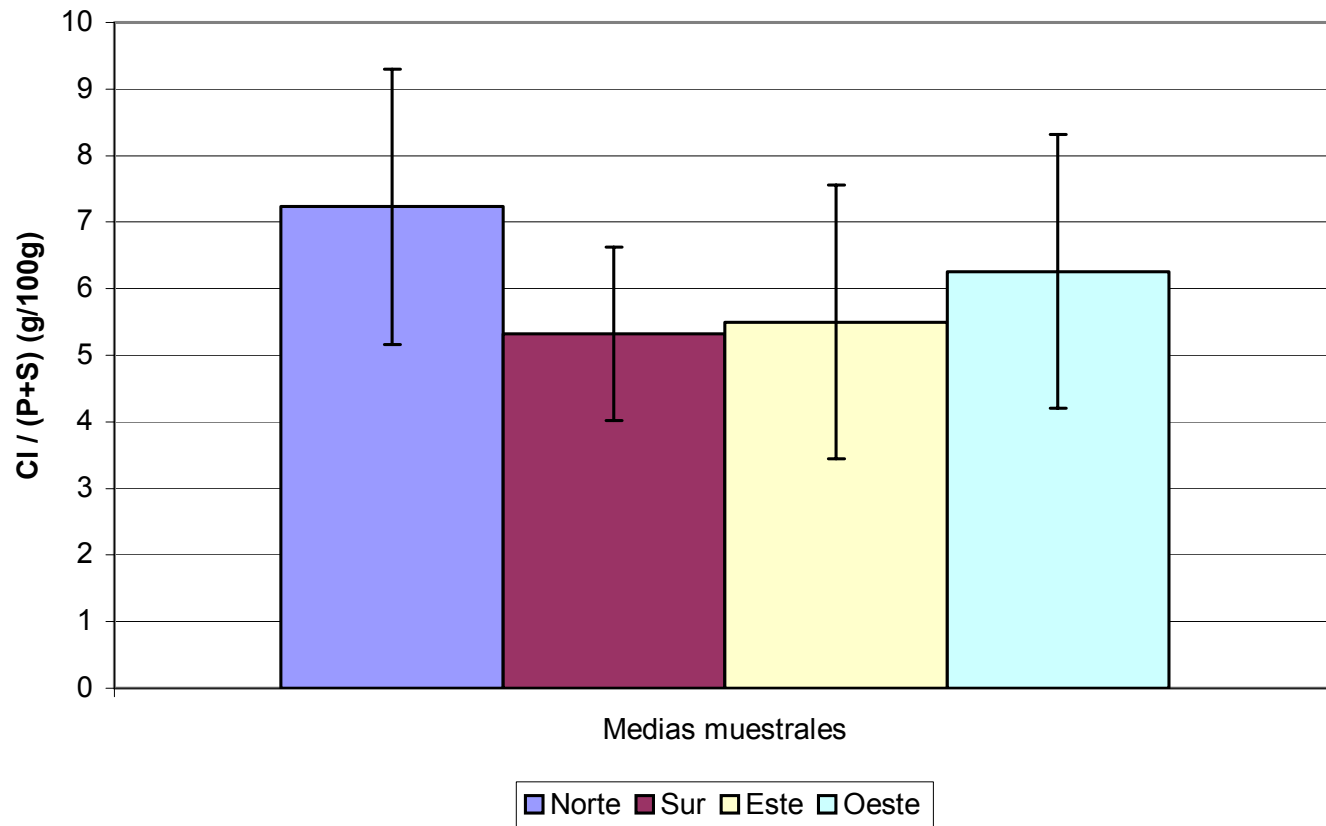


FIGURA IV.104. Valores promedio de microanálisis SEM-EDX del cociente de Cl / (P+S) (g/ 100 g) en base seca en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del jamón curado “D.O. Teruel”.

IV.5.2.4. Estudio comparativo de la determinación de los cocientes atómicos Cl⁻ / P+S por SEM-EDX y del NaCl por potenciometría

Referente al estudio comparativo con las concentraciones de NaCl mediante los análisis potenciométricos, hay que comentar que los valores medios de Cl, expresados mediante cocientes en base a peso de azufre y fósforo de ambos músculos, son ligeramente superiores a los obtenidos por el método potenciométrico. Así pues, para el *biceps femoris* se obtienen valores medios de Cl de 10.03 g / 100 g de (P+S), frente a los 9.47 g de Cl⁻ / 100 g de muestra (b.s.) de los análisis potenciométricos; y para el músculo *semimembranosus* los resultados son de 6.19 g de Cl⁻ / 100 g de (P+S), frente a los 5.61 g de Cl⁻ / 100 g de muestra (b.s.) de los análisis potenciométricos (Fig. IV.105).

Estos valores muestran una pauta de evolución análoga a la obtenida por potenciometría, y el hecho de que sean ligeramente superiores sugiere que la referencia de “fósforo + azufre” podría ser una base de cálculo fiable y posiblemente más precisa que la actual “base seca”, donde los contenidos salinos están distorsionando constantemente el contenido en base seca: en efecto estos valores son variables a lo largo de todo el proceso de curado del jamón, tanto por la penetración masiva de las sales de curado, como por un flujo opuesto de drenaje de solutos, dando globalmente incrementos constante de “base seca”, y por ello, una base de referencia variable y menos adecuada.

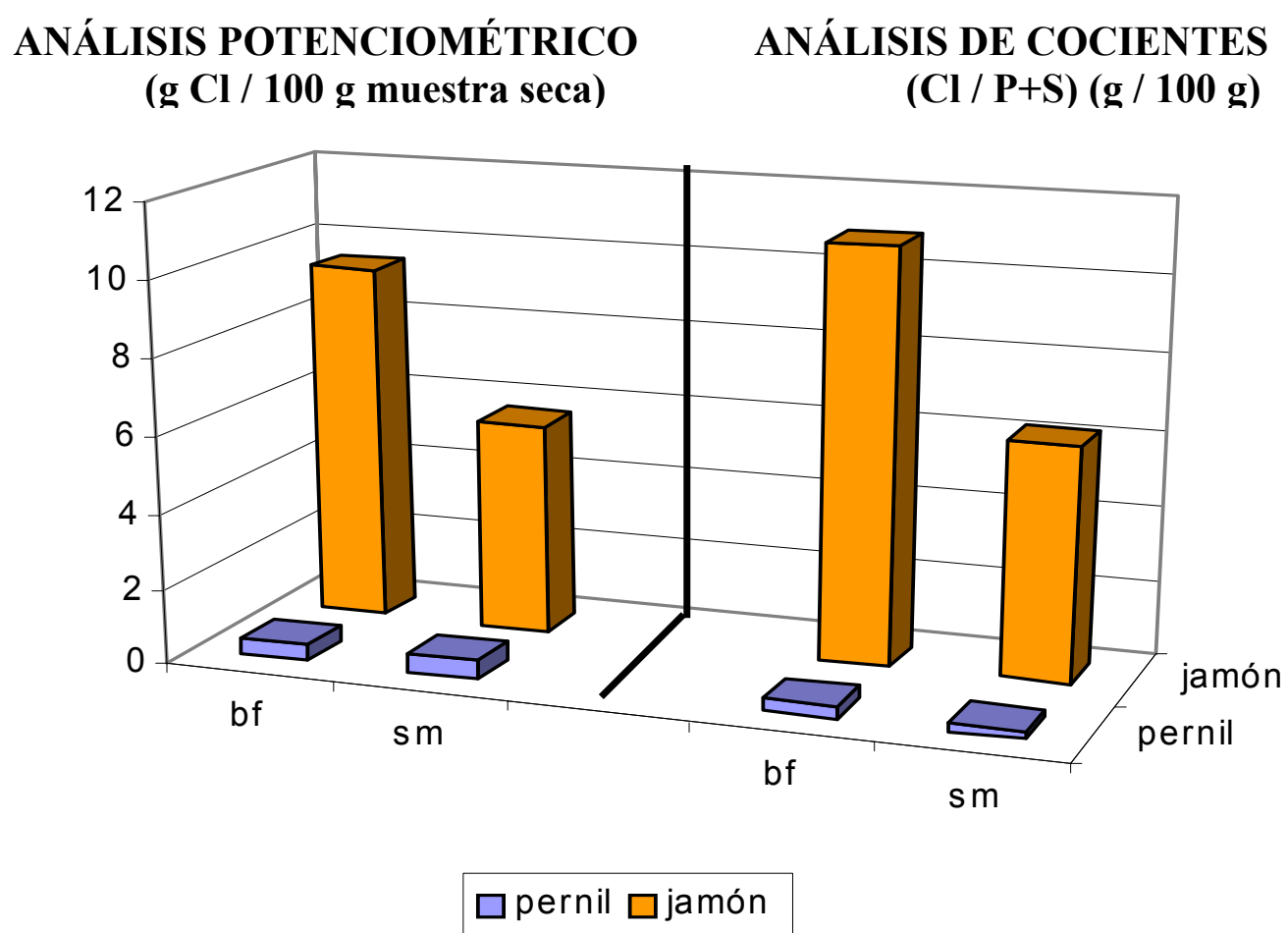


FIGURA IV.105. Análisis comparativo entre los cocientes obtenidos por microanálisis SEM-EDX y la concentración de % NaCl tanto en pernil como en jamón curado “D.O Teruel” por la técnica potenciométrica. (bf: *biceps femoris* sm: *semimembranosus*)

Por lo tanto podemos concluir que el microanálisis-EDX se perfila como una herramienta analítica que permite obtener de manera elegante, y seguramente de forma más ajustada a la realidad, datos experimentales reproducibles con otras técnicas analíticas convencionales, todo lo cual justifica abordar su profundización en estudios futuros.

V. CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES

Durante el proceso de elaboración del jamón curado “D.O. Teruel” los cambios químicos y microestructurales más importantes detectados en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus*, así como en la grasa asociada al músculo *biceps femoris* son:

1. Se produce un descenso de la **humedad** y un incremento en el contenido de **NaCl** a lo largo del proceso. En el jamón curado “D.O. Teruel”, el músculo más interno *biceps femoris* contiene mayor humedad y NaCl que el músculo más externo *semimembranosus*.
2. Las **proteínas sarcoplásmicas** disminuyen de forma importante por insolubilización y drenaje tras la etapa de salado, especialmente en el músculo *semimembranosus*. Las **proteínas miofibrilares** se degradan más intensamente durante la etapa de maduración, y especialmente durante los últimos 4 meses de curado, en los que se ven afectadas las principales proteínas responsables de la estructura del tejido muscular.
3. Se generan **péptidos de bajo peso molecular** (3-17 kDa), y especialmente inferiores a 10 kDa, durante todo el proceso, aunque con más intensidad en la etapa de maduración.
4. La actividad residual de **catepsina B + L** es superior en el músculo *semimembranosus* hasta mitad de la maduración, tras la cual la actividad es mayor en el músculo *biceps femoris*. Durante todo el proceso la actividad residual de **catepsina B** es superior en el músculo *biceps femoris* con respecto al *semimembranosus*, mientras que en el músculo *biceps femoris*, la actividad de la de **catepsina D** es inferior con respecto al músculo *semimembranosus*. La actividad de las exopeptidasas en ambos músculos disminuye durante el proceso; aunque la **piroglutamilaminopeptidasa I**

llega casi a desaparecer, la **dipeptidilpeptidasa IV** mantiene niveles no despreciables en el jamón curado “D.O. Teruel”.

5. En la **grasa intramuscular** de ambos músculos, los ácidos grasos totales monoinsaturados son los más abundantes, seguidos de los saturados y los poliinsaturados; estos últimos sufren una mayor alteración a lo largo de todo el proceso. El 75 % de los ácidos grasos ω -3 y ω -6, y el 50.2 % del ácido oleico, permanecen inalterados en el producto elaborado.
6. En la grasa intramuscular de ambos músculos, la **fracción de triglicéridos** es la mayoritaria y se mantiene prácticamente inalterada a lo largo del proceso. En esta fracción los ácidos grasos monoinsaturados son los más abundantes (ácido oleico, principalmente), seguidos de los saturados (ácido palmítico, principalmente). La **fracción de fosfolípidos** es la segunda en cantidad, y disminuye a lo largo del proceso; los ácidos grasos poliinsaturados son los mayoritarios en esta fracción, y se ven especialmente afectados durante la elaboración. La **fracción de ácidos grasos libres** aumenta a lo largo del proceso; esta fracción posee cantidades similares de ácidos grasos saturados y poliinsaturados, y durante el proceso aumenta la proporción de ácidos grasos libres poliinsaturados. El descenso en fosfolípidos coincide con el aumento en ácidos grasos libres; los ácidos grasos poliinsaturados que se liberan provienen principalmente de la fracción de fosfolípidos.
7. En la grasa intramuscular el **índice de acidez** aumenta progresivamente durante el proceso, de forma más importante en el músculo *semimembranosus*. El **índice de peróxidos**, indicativo de las primeras fases de la autooxidación de los ácidos grasos que se van generando, es ascendente hasta un valor máximo en el postsalado, tras el cual, aunque el índice de peróxidos disminuye, todavía mantiene valores considerables.

8. En la **grasa asociada al músculo *biceps femoris*** hay una alta estabilidad de los ácidos grasos saturados y una disminución de los monoinsaturados durante la elaboración; entre estos últimos el ácido oleico es mayoritario. Tanto el índice de acidez como el de peróxidos son muy superiores en el producto final con respecto al pernil. El índice de yodo alcanza en el jamón curado valores análogos a los de la grasa intramuscular del músculo *biceps femoris*.
9. La **microestructura** de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* del pernil muestra las características típicas del tejido muscular de la carne. En el salado se produce una importante degradación de las membranas y de las proteínas de los costámeros que unen las miofibrillas con el sarcolema. En el jamón curado ambos músculos muestran una estructura compacta, con una matriz proteica más homogénea, en la que se ha perdido la discontinuidad típica entre células y haces musculares de la materia prima original. Hay gran cantidad de solutos acumulados en los espacios intercelulares, principalmente productos de proteólisis que se han generado en el interior celular durante el proceso, y que difunden hacia el exterior celular por el efecto de solubilización y deshidratación que tiene lugar. El músculo *semimembranosus*, más externo y que queda en contacto directo con las sales de curado, presenta un mayor deterioro microestructural que el *biceps femoris*, más profundo y protegido por la capa de tejido adiposo y piel.
10. Las reacciones de proteólisis y lipólisis que tienen lugar durante el proceso de curado de jamón afectan a los componentes estructurales tanto del tejido adiposo intramuscular como del tejido adiposo de la grasa asociada al músculo *biceps femoris*. En el jamón, la grasa liberada de los adipocitos y los productos de lipólisis se encuentran infiltrados entre las células del tejido muscular.

11. La comparación de los contenidos en NaCl, determinados por **microanálisis SEM-EDX** y por el **método potenciométrico**, presenta globalmente concordancias muy notables; sin embargo habría que profundizar más en estos estudios para poder establecer una pauta de comportamiento análoga, que permita en un futuro utilizar la técnica de SEM-EDX. La vía principal de penetración de NaCl durante el proceso de elaboración del jamón es a través de los músculos externos, como el *semimembranosus*, más que a través de la piel y la grasa subcutánea.

VI. BIBLIOGRAFÍA

VI. BIBLIOGRAFÍA

- **AGUILERA, J.M. & STANLEY, D.** (1999). "Microestructural principles of food processing and engineering." *Elsevier Applied Food Science Series*.
- **ÁLVAREZ- PARRILLA, E.; PUIG, A.; LLUCH, M.A.** (1997). "Preparation and chemical and microstructural characterization of surimi from hake (*Merluccius merluccius*) and horse mackerel (*Trachurus trachurus*)." *Food Science and Technology International*, 3, 49-60.
- **ANTEQUERA, T.** (1990) "Evolución del componente lipídico durante la maduración del jamón de cerdo ibérico." Tesis doctoral, Universidad de Extremadura.
- **ANTEQUERA, T.; LÓPEZ-BOTE, C.J.; CÓRDOBA, J.J.; GARCÍA, C.; ASENSIO, M.A.; VENTANAS, J.** (1992). "Lipid oxidative changes in the processing of Iberian pig hams." *Food Chemistry*, 45, 105-110.
- **ANTEQUERA, T.; CÓRDOBA, J.J.; MARTÍN, L.; VENTANAS, J.** (1993). "Productos derivados de la lipólisis y de la oxidación lipídica en jamones ibéricos y cruzados con Duroc." *Alimentaria*, diciembre, 27-30.
- **ANTEQUERA, T.; GARCÍA, C.; LÓPEZ, C.; VENTANAS, J.; ASENSIO M.A.; CÓRDOBA, J.J.** (1994). "Evolución de distintos parámetro físico-químicos durante la elaboración del jamones ibéricos a partir de cerdos ibéricos (100%) e Ibéricos x Duroc (50%)." *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 34 (2), 178-190.
- AOAC (1997). "Official methods of analysis." (14th edition). *Association of Official Analytical Chemistry*, Washington. D.C.
- **ARMERO, E.; NAVARRO, J.L.; NADAL, M.I.; BASELGA, M.; TOLDRÁ, F.** (2002). "Lipid composition of pork muscle as affected by sire genetic type." *Journal of Food Biochemistry*, 26 (2), 91-102, 20 ref.
- **ARNAU, J.; GUERRERO, L.; CASADEMONT, G.; GOU, P.** (1995). "Physical and chemical changes in different zones of normal and PSE dry cured ham during processing." *Food Chemistry*, 52, 63-69.

-
- **ASGHAR, A. & BHATTI, A.R.** (1987). "Endogenous proteolytic enzymes in skeletal muscle: their significance in muscle physiology and during post-mortem aging events in carcasses." *Advances in Food Research*, 31. (C.O. Chichester, E. M. Mrak and B.S. Schweigert). Acad. Press., San Diego, USA, 343-451.

 - **ASHIE, I.N.A. & SIMPSON, B.K.** (1997). "Proteolysis in food myosystem." A review. *Journal of Food Biochemistry*, 21,91-123.

 - **ASTIASARAN, I.; CID, C.; MELGAR, J.; BELLO, J.** (1991). "Estudio analítico comparativo de dos tipos de jamones curados: de cerdo Ibérico y de cerdo blanco." *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 31, 37-45.

 - **BALDERAS, B.; GALÁN SOLDEVILLA, H.; MÁRQUEZ PRIETO, L.; PERALTA FERNANDEZ, A.; CIUDAD, N.; GONZALEZ; LEÓN CRESPO, F.** (1993). "Evolución del índice de acidez de la grasa subcutánea de jamones con distintos periodos de salazón durante las fases de post-salazón y estufaje". *Alimentaria*, 3, 27-29.

 - **BALDINI, P.; PALMIA, F.; PEZZANI, G.; LAMBERTINI, L.** (1983). "Investigations on the composition of surface fat in fresh hams for processing into Parma ham." *Ind. Conserve*, 58, 219-222.

 - **BARRET & KIRSCHKE** (1981). "Proteolytic Enzymes part C", In: *Methods of Enzymology* volume 80, Lazlo Lorand (editor). *Academic Press, New York*, p 567.

 - **BELITZ, H. D. & GROSCH, W.** (1997). "Química de los alimentos". *Ed. Acribia, Zaragoza*.

 - **BELLATI, M.; DAZZI, G.; CHIZZOLINI, R.; PALMIA, F. ; PAROLARI, G.** (1983). "Physical and chemical changes in proteins during the maturation of Parma ham. I. Biochemical and functional changes." *Proc. 29th Eur. Conf. Meat Res. Work. B.1.* 125-134.

 - **BELLO, J.** (1985). "Alteraciones del jamón curado." *Cárnica 2000*. 18, 63-80.

 - **BLANCHARD, P.; ELLIS, M.; MALTIN, C.; FALKOUS, G.; HARRIS, J.B.; MANTLE, D.** (1993). "Effect of growth promoters on pig muscle structural protein and proteolytic enzyme levels in vivo and in vitro." *Biochemie*, 75, 839-847.

 - Boletín Oficial del Estado. 3/11/93.

-
- **BOTHE, D.; SIMONIS, M.; VON DÖHREN, H.** (1985). "A sodium dodecil sulfate-gradient gel electrophoresis system that separates polypeptides in the molecular weight range of 1500 to 100,000." *Analytical Chemistry*, 151, 49-54.

 - **BREMER, H.A. & HALLET, I.C.** (1985). "Muscle fiber - connective tissue junctions in the fish blue grenadier (*Macruronus novaezelandiae*)." *Journal of Food Science*, 50, 975-980.

 - **BUSCAILHON, S.; GANDEMER, G.; MONIN, G.** (1994). "Time-related changes in intramuscular lipids of French dry-cured ham." *Meat Science* 37, 245-255.

 - **CAPEL, J.** (1992). "Alimentos de España. Jamón." *Ed. El País S.A. / Aguilar*.

 - **CARRASCOSA, A.V.; MARIN, M.E.; AVEDAÑO, M.C.; CORNEJO, I.** (1988). "Jamón Serrano: Cambios microbiológicos y físico-químicos durante el curado rápido." *Alimentaria*. (194), 9-12, 18 ref.

 - **CASSENS, R.** (1994). "Meat preservation." *Food and Nutrition Press*. Connecticut, USA.

 - **CAVA, R.; RUIZ, J.; VENTANAS, J.; ANTEQUERA, T.** (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.

 - **CHIUNG, Y.; STROMER, M.; ROBSON, R.** (1996). "Effect of electrical stimulation on postmortem titin, nebulina, desmin, and troponin-T degradation and ultrastructural changes in bovine longissimus muscle." *Journal of Animal Science*, 74, 1563-1575.

 - Consejo Regulador de la Denominación de Origen "Jamón de Teruel". (2001). www.cai.es.

 - **CÓRDOBA, J.J.; ANTEQUERA, T.; VENTANAS, J.; LÓPEZ-BOTE, C.; GARCÍA, C.; ASENSIO, M.A.** (1994). "Hydrolysis and loss of extractibility of proteins during ripening of Iberian Ham." *Meat Science*, 37, 217-227.

 - **COUTRON-GAMBOTTI, C. ; GANDEMER, G.** (1999). "Lipolysis and oxidation in subcutaneous adipose tissue during dry-cured processing." *Food Chemistry*, 64, 95-101.

 - DOCE. N° 208/3 (1992). Reglamento (CEE) 2081/92.

-
- **DUFOUR, E.; OBLED, A.; VALIN, C.; BECHET, D.** (1987). "Purification and aminoacid sequence of chicken liver cathepsin L". *Biochemistry*, 26, 5689-5695.
 - **ETHERINGTON, D. J.** (1984). "The contribution of proteolytic enzymes to postmortem changes in muscle." *Journal of Animal Science*, 59, 1644-1650.
 - **ETHERINGTON, D.J.; TAYLOR, M.A.J.; DRANSFIELD, E.** (1987). "Conditioning of meat from different species. Relationship between tenderizing and the levels of cathepsin B, cathepsin L, calpain I, calpain II and beta-glucuronidase." *Meat Science*, 20, 1-18.
 - **FEIDT, C.; BRUN-BELLUT, J.; DRANSFIELD, E.** (1998). "Liberation of peptides during meat storage and their interactions with proteinase activity." *Meat Science*, 49, 223-231.
 - **FENNEMA, O.R. & GROSCH, W.** (1992). "Química de los alimentos". Ed. Acribia, Zaragoza.
 - **FLORES, J.; BERMELL, S.; NIETO, P. COSTELL E.** (1984). "Cambios químicos en las proteínas del jamón durante los procesos de curado lento y rápido, y su relación con la calidad." *Revista de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos*, 24(4), 503-509.
 - **FLORES, J.; BERMELL, S.; NIETO, P.; MIRALLES.** (1985). Cambios químicos en los lípidos del jamón durante los procesos de curado lento y rápido, y su relación con la calidad. *Revista de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos*, 25(1), 117-124.
 - **FLORES, J.; BERMELL, S.; NIETO, P.; COSTELL E.** (1987). "Cambios en los ácidos grasos de los lípidos del jamón durante el proceso de curado. I. Magro de jamón." *Revista de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos*, 27, 599-607.
 - **FLORES, J.; BIRON, C.; IZQUIERDO, L.; NIETO P.** (1988). "Characterization of green hams from Iberian pigs by fast analysis of subcutaneous fat." *Meat Science*, 23, 253-262.
 - **FLORES, M.; ARISTOY, M.C.; SPANIER, A.M.; TOLDRÁ, F.** (1997) "Non-volatile components effects on quality of "Serrano" dry-cured ham as related to processing time" *Journal of Food Science*, 62 (6), 1235-1239.
 - **FLORES, M.; ARISTOY, M.C.; TOLDRÁ, F.** (1997b). "Curing Agents affect aminopeptidasa activity from porcine skeletal muscle." *Z Lebensm Unters Forsch A* (205), 343-346.

-
- **FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G.M.** (1957). "A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues." *Journal Biological Chemistry*, 226:497.
- **FOX, J.B.** (1980). "Diffusion of chloride, nitrite and nitrate in beef and pork." *Journal of Food Science*, 45 (6), 1740-1744, 21 ref.
- **FRÖYSTEIN, T.; SHORHEIM, O.; BERG, S.A.; DALEN, K.** (1989). "Salt distribution in cured hams, studied by computer X-ray tomography." *Fleischwirtsch.*, 69, 220-225.
- **GARCÍA-GARRIDO, J.A.; QUILES-ZAFRA, R.; TAPIADOR, J.; LUQUE DE CASTRO, M.D.** (1999). "Sensory and analytical properties of Spanish dry-cured ham of normal and defective texture." *Food Chemistry*, 67 (4), 423-427, 14 ref.
- **GARCÍA, C.; BERDAGUÉ, J.J.; ANTEQUERA, T.; LOPEZ-BOTE, C.; CÓRDOBA, J.; VENTANAS, J.** (1991). "Volatile components of dry cured Iberian ham." *Food Chemistry*, 41 (1), 23-32, 17 ref.
- **GEISSINGER, H.; STALEY, D.** (1981). "Preparation of muscles samples for electron microscopy." *Scanning Electron Microscopy*, 3, 415-426.
- **GIL, A.** (2002a). "Papel de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados en los procesos inflamatorios." En: MATAIX, J.; GIL, A. (Eds). *El libro blanco de los Omega-3: Los ácidos grasos poliinsaturados Omega 3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud*, 65-78.
- **GIL, A.** (2002b). "Función de los ácidos grasos poliinsaturados en la piel, enfermedades de la piel y otras patologías emergentes." En: MATAIX, J.; GIL, A. (Eds). *El libro blanco de los Omega-3: Los ácidos grasos poliinsaturados Omega 3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud*, 99-109.
- **GIL, M.; GISPERT, M.; SÁRRAGA, C.** (1991). "Cathepsin D activity as an index of curing time for Spanish dry-cured ham. In 37th International Congress of Meat Science and Technology. Kulmbach, Germany, Vol 1, 360-364.
- **GOLL, D.E.; OTSUKA, Y.; NAGAINIS, P.A.; SATHE, S.K.; SHANNON, J.D.; MUGURUMA, M. J.** (1982) "Muscle proteinases and their possible roles in muscle growth and meat texture." *Biochem. Soc. Trans.*, 10 (4), 280-282, 38 ref.

-
- **GOLL, D.E.; OTSUKA, Y.; NAGAINIS, P.A.; SHANNON, J.D.; SATHE, S.K.; MUGURUMA, M.** (1983). "Role of muscle proteinases in maintenance of muscle integrity and mass." *J. Food Biochem.*, 7, 137-177, 139 ref.
 - **GOLL, D.E.** (1991) "Role of proteinases and protein turnover in muscle growth and meat quality." *Proceedings Annual Reciprocal Meat. Annual Reciprocal Meat Conference of the American Meat Science Association*, 44, 25-36, 21 ref.
 - **GRAY, J.** (1978). "Measurement of lipid oxidation" *A review J. AOAC*, 55, 539-546.
 - **GREASER, M.L.; YATES, L.D.; KRYWICKI, K.; ROELKE, D.L.** (1983). "Electrophoretic methods for the separation and identification of muscle proteins." *Reciprocal Meat Conference*, 36, 87-91.
 - **HERTZMAN, C.; GÖRANSSON L.; RUDERUS H.** (1988). "Influence of fishmeal, Rape-seed, and Rape-seed meal in feed on the fatty acid composition and storage stability of porcine body fat." *Meat Science*, 23, 37-53.
 - **HIRAO, T.; HARA, K.; TAKAHASHI, K.** (1984). "Purification and characterization of cathepsin D from monkey skeletal muscle". *Journal of Biochemistry* (Tokio), 95, 871-879.
 - **HUERTA, T.** (1986). "Aspectos fisico-químicos y microbiológicos del jamón curado por vía seca." *Tesis Doctoral: Universidad de Valencia, Facultad de Ciencias Biológicas.*
 - **HUGAS, M.; MONFORT, J.M.** (1986). "Microbial evolution during the curing of Spanish Serrano hams. The influence of some preservatives on the microbial flora." *Proceedings of the European Meeting of Meat Research workers n° 32*, vol. II, 6:4, 307-310, 5 ref.
 - **IRIARTE, M.L.; PÉREZ, P.J.; GAGO, M.A.; FITO, P.; ARANDA, V.** (1993). "Introducción al estudio del salado de paleta de cerdo por deshidratación osmótica a vacío." *Anales de Investigación del Master en Ciencias y Tecnología de Alimentos*, 3, 579-593.
 - ISO R-936. 1973. "Meat and meat products. Determination of ashes." *Geneve: International Organization for Standardization.*

-
- **KOOHMARAIE, M.; WHIPPLE, G.; KRETCHMAR, D.; CROUSE, J.D.; MERSMANN, H.** (1991). "Postmortem proteolysis in *longissimus* muscle from beef, lamb and pork carcasses." *Journal of Animal Science*, 66, 617-624.

 - **KOOHMARAIE, M.** (1994). "Muscle proteinases and meat aging." *Meat Science*, 36, 93-106.

 - **KURTH, L.B.** (1986). "Effect of pressure-heat treatments on cathepsin B activity". *Journal of Food Science*, 51, 663-664.

 - **LAWRIE,** (1997). "Ciencia de la carne." *Ed. Acribia. Zaragoza, III Edición.*

 - **LEISTNER, L.** (1985). "Allgemeines über Rohwurst und Rohschinken." *In Mikrobiologie. Toxikologie und Histologie der Bundesanstalt für Fleischforschung. Kulmbach. Germany.* 1-29.

 - **LEÓN-CRESPO, F; PENEDO PADRÓN, J.C.; BANDEIRA VELLOSO, C.; GALÁN SOLDEVILLA, H.; BARRANCO SÁNCHEZ, A.; CIUDAD GONZÁLEZ, N.; PERALTA FERNÁNDEZ, A.** (1991). "Distribution of Salt in Spanish Ham during the post-salting Period." *Proc. 37th International Congress of Meat Science and Technology.* Kulmbach, (Germany). 2, 892-895.

 - **LESEIGNEUR-MEYNIER, A. & GANDEMER, G.** (1991). "Lipid composition of pork muscle in relation to the metabolic type of the fibres." *Meat Science.* 29 (3), 229-241; 38 ref.

 - **LOZANO, M.; VIDAL-ARAGÓN, M.C.; MONTERO DE ESPINOSA, V.; SABIO, E.** (1998). "Características nutricionales de 6 tipos de jamón curado procedentes de países del sur de Europa: Bayona, Corso, Ibérico, Italian Country Style, Parma y Serrano. Preferencias de los consumidores españoles." *Alimentaria*, (297), 99-103, 12 ref.

 - **LLOYD, J.B. & MASON, R.W.** (1996). "Biology of the lysosome." *In Subcellular biochemistry* (vol. 27). New York: Plenum Press.

 - **LLUCH, M.A.; PÉREZ-MUNUERA, I.; HERNANDO, I.** (2001). "Proteins in Food Structures." *En: SKORSKI, Z. (Eds.). "Chemical & Functional Properties of Food Proteins." In: Chemical and Functional Properties of Food Components Series.* pp: 16.

 - MAPA, (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación). (2001). www.mapa.es.

-
- **MARTÍN, L.; ANTEQUERA, T.; RUIZ, J.; CAVA, R.; TEJEDA J.F.; CÓRDOBA, J.J.** (1998 a) "Influence of the processing conditions of Iberian ham on proteolysis during ripening." *Food Science and Technology International*, 4, 17-22.
 - **MARTÍN, L.; CÓRDOBA, J.J.; VENTANAS, J.; TIMÓN, M.L.; ANTEQUERA, T.** (1998 b). "Effects of salt and temperature on proteolysis during ripening of Iberian Ham." *Meat Science*, 49, (2), 145-153.
 - **MARTÍN, L.; CÓRDOBA, J.J.; VENTANAS, J.; ANTEQUERA, T.** (1999). "Changes in intramuscular lipids during ripening of Iberian dry-cured ham." *Meat Science* , 51, 129-134.
 - **MASSA, A.; PUIG, A.; LLUCH, M.A.** (1998). "SEM and Cryo-SEM observed microstructure of pickled carrot (*Daucus carota*, L.). Salt penetration during the process." *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, Vol. 7/48, nº 2 (5).
 - **MATA, P.; ALONSO, R.; MATA, N.** (2002). "Los omega-3 y omega-9 en la enfermedad cardiovascular." En: MATAIX, J.; GIL, A. (Eds). *El libro blanco de los Omega-3: Los ácidos grasos poliinsaturados Omega 3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud*, 49-64.
 - **McDONALD, J.K. & BARRET, A.J.** (1986). "Mammalian Proteases." A glossary and bibliography. Volume 2. *Exopeptidases*. Academic Press, London. P 132-144 en p 305-308.
 - **MESSINEO & MUSARRA** (1972). "A sensitive spectrophotometric method for the determination of free bound tryptophan." *Int. J. Biochem.*, 3, 700-704.
 - **MONIN, G.; MARINOVA, P.; TALMANT, A.; MARTÍN, J. F.; CORNET, M.; LANORE, D.; GRASSO, F.** (1997). "Chemical and structural changes in dry-cured hams (Bayones Hams) during processing and effects of the dehairing technique." *Meat Science*, 47 (1/2), 29-47.
 - **MOTILVA, M..J.; TOLDRÁ, F.; NIETO P.; FLORES, J.** (1993). "Muscle Lypolysis phenomena in the processing of dry-cured ham." *Food Chemistry*, 48, 121-125.
 - **MURIANA, F. J. G.** (2002). "Efectos anticancerígenos de los ácidos grasos omega-3 y oleico." En: MATAIX, J.; GIL, A. (Eds). *El libro blanco de los Omega-3: Los ácidos grasos poliinsaturados Omega 3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud*, 111-125.

-
- **NAVARRO, J.L.; NADAL, M.I.; IZQUIERDO, L.; FLORES, J.** (1997) "Lypolysis in dry cured sausages as affected by processing conditions" *Meat Science*, 45, 161-168.

 - **NIETO, P.** (1988). "Aportaciones a la tecnología del jamón curado: cambios físicos, químicos y sensoriales durante los procesos de curado lento y rápido." *Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Valencia.*

 - **OKITANI, A.; MATSUKURA, U.; KATO, H.; FUJIMAKI, M.** (1980). "Purification and some properties of a myofibrillar protein-degrading protease, cathepsin L, from rabbit skeletal muscle". *Journal Biochemistry*, 87, 1133-1143.

 - **ORDÓÑEZ, J. CAMBERO, I.; FERNÁNDEZ, L.; GARCÍA, L.; GARCÍA DE FERNANDO, G.; DE LA HOZ, L.; SELGAS M.D.** (1998). "Tecnología de los alimentos." Vol.II. *Alimentos de origen animal.* Ed. Síntesis, S.A.

 - **OUALI, A.; GARREL, N.; OBLED, A.; DEVAL, C.; VALIN, C.** (1987). "Comparative action of cathepsins D, B, H y L and a new lysosomal cysteine proteinase on rabbit myofibrils." *Meat Science* 19, 83-100

 - **OUALI, A.** (1990). "Meat tenderization: posibles causas and mechanisms." *A review: Journal of Muscles Foods*, 1, 129-165.

 - **OUALI, A.** (1999). "Structure and biochemistry of muscle as related to meat texture." *Proc. 14th European Symposium on the Quality of Poultry Meat*, Bologna, 1, 91-121.

 - **PALMIA, F.; MAZOYER, C.; DIAFERIA, C.; BALDINI, P.; PORRETTA, A.** (1992) "Salt and water distribution in typical Italian hams." *Revista española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 32 (1), 71-83.

 - **PARREÑO, M.; CUSSÓ, R.; GIL, M.; SÁRRAGA, C.** (1994). "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.

 - **PASCUAL-ALBERO, M.J.; PÉREZ MUNUERA, I.; LLUCH, M.A.** (1998). "Cotyledon structure of almond side (*Prunus amigdalus*, L.) raw, soked and toasted." *Food Science and Technology International*, 4, 187-197.

-
- **PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; GAGO-GAGO, M.A.; RUIZ-PELUFFO, C.; ROSMINI, M.; PAGAN-MORENO, M.J.; LOPEZ SANTOVERA, F.; ARANDA-CATALÁ, V.** (1997). "Properties of dry cured ham: temperature and pH influence during salting stage." *Journal of Muscle Foods*. 8 (3), 315-327.
- **PÉREZ-MUMUERA, I., ESTEVES, M.; LLUCH, M.A.** (1999a). "Estudio de algunos quesos típicos españoles por Microscopía Electrónica de Barrido. Principales modificaciones estructurales por la congelación." *Food Science and Technology International*, 5 (6), 515-521.
- **PÉREZ-MUMUERA, I.; SOTELO, I.; HERNANDO, I.; LLUCH, M.A.** (1999b). "Degradación postmortem en músculo de conejo: Evolución de la microestructura." *Alimentaria*, Diciembre, 19-24.
- **PRICE, J.F. & SCHWEIGERT, B.S.** (1994). "Ciencia de la carne y de los productos cárnicos." *Ed. Acribia, Zaragoza*.
- **PRIMO YUFERA, E.** (1997). "Química de los alimentos." *Ed. Síntesis S.A., Madrid*.
- **RICO, E.; TOLDRÁ, F.; FLORES, J.** (1990). "Activity of cathepsin D as affected by chemical and physical dry-curing parameters." *Z Lebensm Unters Forsch A*. 191, 20-23.
- **RICO, E.; TOLDRÁ, F.; FLORES, J.** (1991). "Effect of dry-curing process parameters on pork muscle cathepsins B, H and L activity." *Z Lebensm Unters Forsch A*. 193, 541-544.
- **RODRÍGUEZ, M.; NÚÑEZ, F.; CÓRDOBA J.J.; SANABRIA, C.; BERMÚDEZ, E.; ASENSIO, M.A.** (1994). "Characterization of *Staphylococcus ssp.* and *Micrococcus ssp.* isolated from Iberian ham through the opening process." *International Journal of Food Microbiology*, 24, 329-335.
- **RODRÍGUEZ-NUÑEZ, E.; ARISTOY, M.C.; TOLDRÁ, F.** (1995). "Peptide generation in the processing of dry-cured ham." *Food Chemistry*, 53, 187-190.
- **ROSELL, C.M. & TOLDRÁ, F.** (1998). "Comparision of muscle proteolytic and lipolytic enzyme levels in raw hams from Iberian and White pigs." *J Sci Food Agric*. 76, 117-122.
- **SANZ EGAÑA, C.** (1967). "Enciclopedia de la carne." *Ed. Espasa-Calpe S.A, Madrid*.

-
- **SÁRRAGA, C.; GIL, M.; ARNAU, J.; MONFORT, J.M.; CUSSO, R.** (1989). "Effect of curing salt and phosphate on the activity of porcine muscle proteases." *Meat Science* 25, 241-250.
 - **SAYAS BARBERÁ, M.E & PÉREZ, J.A.** (1989). "Aportaciones al proceso tecnológico de elaboración de jamón curado: evaluación de los procesos fisicoquímicos y estructurales durante el proceso de postsalado." *Tesis grado Master. Universidad Politécnica de Valencia.*
 - **SAYAS BARBERÁ, M.E.** (1997). "Contribuciones al proceso tecnológico de elaboración del jamón curado: aspectos físicos, fisicoquímicos y ultraestructurales en los procesos de curado tradicional y rápido." *Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia.*
 - **SAYAS-BARBERÁ, M.E.; PÉREZ-ALVAREZ, J.A.; LOPEZ-ANTÓN, N.; FERRER, J.M.; ARANDA-CATALÁ, V.** (1990). "Ultrastructure analysis in Spanish dry-cured ham: Dry cured effect upon principal muscles in ham during postsalting stage." *36th International Congress of Meat Science and Technology.* Havana, Cuba, Vol. III. 913-919.
 - **SCHÄGGER, H. & VON JAGOW.** (1987). "Tricine-sodium dodecil sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa". *Analytical Biochemistry*, 166, 368-379.
 - **SCHWARTZ, W. N. & BIRD, J. W. C.** (1997). "Degradation of myofibrillar proteins by cathepsins B and D". *Biochemistry Journal*, 191, 487-491.
 - **SENTANDREU, M.A. & TOLDRÁ, F.** (2001a). "Purification and biochemical properties of dipeptidylpeptidase I from porcine skeletal muscle." *J. Agric. Food Chem.* 48, 5014-5022.
 - **SENTANDREU, M.A. & TOLDRÁ, F.** (2001b). "Dipeptidyl peptidase activities along the processing of Serrano dry-cured ham." *Eu. Food Res. Technol.*, 213, 83-87.
 - **SENTANDREU, M.A.; COULIS, G.; OUALI, A.** (2002). "Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness." *Trends in Food Science & Technology*, 13, 398-419.
 - **SENTANDREU, M.A.; STOEVA, M.C.; ARISTOY, M.C.; LAIB, K.; VOELTER, W.; TOLDRÁ, F.** (2003). "Identification of small peptides generated in spanish dry-cured ham." *Food Chemistry and Toxicology*, 68, 64-69.

-
- **SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M.; WHIPPLE, G.; WHEELER, T.L.; MILLER, M.F.; CROUSE, J.D.; REAGAN, J.O.** (1991). "Predictions of beef tenderness: development and verification." *Journal of Food Science*, 56, 1130-1135.
- **SHARMA, N.; KOWALE, BN.; JOSHI, HB.** (1982). "Influence of storage on lipid composition of skin and adipose tissues of broiler and quail." *Indian Journal of Poultry Science*, 17 (3) 236-241, 21, ref.
- **SILVA, T.J.P.; ORCUTT, M.; FORREST, J.; BRACKER, C.E. ; JUDGE, M.D.** (1993). "Effect of heating rate on shortening, ultrastructure and fracture behavior of prerigor beef muscle." *Meat Science*, 33, 1-24.
- **SILLA, H.; MOLINA, I.; FLORES, J.; SILVESTRE, D.** (1989). "A study of the microbial flora of dry-cured ham." *Fleischwirtschaft*, 69 (7), 1128-1131, 12 ref.
- **SOTELO, I.** (2000). Cambios químicos y microestructurales en el proceso postmortem de la carne cubierta con *Pteridium aquilinum*. *Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia*.
- **SOTELO, I.; PÉREZ-MUNUERA, I.; QUILES, A.; HERNANDO, I.; LARREA, V.; LLUCH M.A.** (2004). "Microstructural changes in rabbit meta wrapped with *Pteridium aquilinum* during postmortem stored." *Meat Science*, 66, 823-829.
- **TABILO, G.; FLORES, M.; FISZMAN, S.M.; TOLDRÁ, F.** (1999). "Postmortem meta quality and sex affect textural porperties and protein breakdown of dry-cured ham." *Meat Science*, 51, 255-260.
- **TAYLOR, R.; GEESINK, G.; THOMPSON, V.; KOOHMARAIE, M.; GOLL, D.** (1995). "Is z-disk degradation responsible for postmortem tenderization?" *Journal of Animal Science*. 73, 1351-1367.
- **TOLDRÁ, F. & ETHERINGTON, D. J.** (1988). "Examination of Cathepsins B, D, H and L Activities in Dry-Cured Hams." *Meat Science*, 23, 1-7.
- **TOLDRÁ, F.; MOTILVA, M.J.; FLORES, J.** (1991). "Enzyme activities in the processing of dry-cured ham." En *Proccedings of the 37th International Congress of Meat Science and Technology*, Kulmbach, Germany, 2:954-957.

-
- **TOLDRÁ, F.; MIRALLES, M.C.; FLORES, J.** (1992). "Protein extractability in dry-cured ham." *Food Chemistry*, 44(5), 391-394.
 - **TOLDRÁ, F. & ARISTOY, M.C.** (1993). "Availability of essential amino acids in dry-cured ham." *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 44, 215-219.
 - **TOLDRÁ, F.; RICO, E.; FLORES, J.** (1993) "Cathepsins B, D, H and L activities in the processing of dry-cured ham." *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 62 (2), 157-161.
 - **TOLDRÁ, F.; FLORES, M.; ARISTOY, M.C.; VIRGILI, R.; PAROLARI, G.** (1996). "Pattern of muscle proteolytic and lipolytic enzymes from light and heavy pigs." *J. Sci. Food Agric.* 71, 124-128.
 - **TOLDRÁ, F.; FLORES, M.; SANZ, Y.** (1997). Dry-cured ham flavour: enzymatic generation and process influence. *Food Chemistry*, 59, 523-530.
 - **TOLDRÁ, F. & FLORES, M.** (1998a). "The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham." *Critical reviews in Food Science*, 38(4), 331-352.
 - **TOLDRÁ, F.** (1998b). "Desarrollo de las características de textura y flavor; contribución enzimática. El jamón curado: Tecnología y análisis de consumo." *Proceedings of 44th International Congress of Meat Science and Technology*. Barcelona, España. 42-54.
 - **TOLDRÁ, F.** (1998c). "Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. *Meat Science*, 49, S101-S110.
 - **TOLDRÁ, F.; ARISTOY, M.C.; FLORES, M.** (2000). "Contribution of muscle aminopeptidasa to flavor development in dry-cured ham." *Food Research International*, 33, 181-185.
 - **TOUSSAINT-SAMAT, M.** (1991). "Caviar, los mariscos y el jamón. 3." *Productos cárnicos*. Ed. Alianza, Madrid.
 - **TURK, B.; TURK, D.; TURK, V.** (2000). "Lysosomal cysteine proteases: more than scavengers." *Biochimica Biophysica Acta*, 1477, 98-111.

- UNE 55 082 73. (1973). “Materias grasas. Determinación de la humedad y materias volátiles. Método de la estufa de vacío.” Norma Española. Madrid. *Instituto Nacional de Racionalización y Normalización*.

- UNE 34 552 h2. (1972). “Método de ensayo de carnes y productos cárnicos. Determinación de la humedad.” Norma Española. Madrid. *Instituto Nacional de Racionalización y Normalización*.

- UNE 55011. (1964). “Cuerpos grasos. Determinación de la acidez libre.” Norma Española. Madrid. *Instituto Nacional de Racionalización y Normalización*.

- UNE 55013. (1964). “Cuerpos grasos. Determinación del índice de yodo.” Norma Española. Madrid. *Instituto Nacional de Racionalización y Normalización*.

- UNE 5502373. (1973). “Materias grasas. Índice de peróxidos.” Norma Española. Madrid. *Instituto Nacional de Racionalización y Normalización*.

- **VARMAN, A.H. & SUTHERLAND, J.P.** (1995). “Meat and Products.” *Technology, Chemistry and Microbiology*. Chapman & may. London.

- **VENTANAS, J.; CÓRDOBA, J.J.; ANTEQUERA, T.; GARCÍA, C.; LÓPEZ-BOTE, C.; ASENSIO, M.A.** (1989). “Physicochemical changes during the postsalting period of Iberian hams.” *35th International Congress of Meat Science and Technology. ICoMST-89*, Copenhagen, (Denmark), 707-709.

- **VENTANAS, J.; CÓRDOBA, J.J.; ANTEQUERA, T.; GARCÍA, C.; LÓPEZ-BOTE, C.; ASENSIO, M.A.** (1992). “Hydrolysis and Maillard reactions during ripening of Iberian ham.” *Journal of Food Science*, 57, 813-815.

- **VIRGILI, R.; PAROLARI, G.; SCHIVAZAPPA, C.; SORESI, C.; VOLTA, R.** (1995). “Effetto della material prima sulla proteolisi e sulla consistenza del prosciutto crudo tipico.” *Industria Conserve*, 70. n° 1, 21-31.

- **VOYLE, C.** (1981). “Scanning electron microscopy in meat science. *Scanning Electron Microscopy*, 3, 405-413.

- **WEBER, K., & OSBORN, M.** (1969). "The reliability of molecular weight determinations by dodecil sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis." *The Journal of Biological Chemistry*, 244 (16), 4406-4412.

- **YATES, L.; DUTSON, T.R.; CALDWELL, J.; CARPENTER, Z. L.** (1983). "Effect of temperature and pH on the postmortem degradation of myofibrillar proteins." *Meat Science*, 9, 157-179.

- **ZEECE, M. G. & KATOH, K.** (1989). "Cathepsin D and its effectis on myofibrillar proteins: a review." *Journal of Food Biochem.*, 13, 157-178

VII. ABREVIATURAS

VII. ABREVIATURAS

- a: adipocitos
- bg: beta de grasa
- b.h.: base húmeda
- b.s.: base seca
- BSA: Seroalbúmina bovina
- C: monómeros entrecruzadores
- CC: citocromo C
- c: proteínas de los costámeros
- c.f.u: unidades formadoras de colonias
- cr: cristales NaCl
- co: conexiones proteicas
- Cryo-SEM: Microscopía electrónica de barrido a bajas temperaturas
- DPP IV: dipeptidilpeptidasa IV
- ds: disolución salina
- e: endomisio
- EDTA: ácido etilendiaminotetraacético
- EDX: Espectrometría de rayos X, dispersión de energías
- F: fibras musculares
- g: grasa libre
- gl: grasa libre intramuscular
- Gly-Pro-NHMeC: glicil-prolil-aminometilcumarina
- gp: “gaps” o huecos
- H: banda H
- LM: Microscopía óptica
- M: línea M
- m: miofibrillas
- mt: mitocondrias
- n: núcleo
- p: perimisio
- Pm: peso molecular

- PGAP I: piroglutamilaminopeptidasa I
- Pyr-NHMeC: piroglutamilaminometilcumarina
- S: sarcolema
- sa: solutos acumulados
- sd: solutos disueltos
- sr: sarcómero
- SDS: Dodecil sulfato sódico
- SDS-PAGE: electroforesis en geles de poliacrilamida
- SEM: Microscopía electrónica de barrido
- T: Monómeros totales
- Ta: tejido adiposo
- TEMED: N,N,N',N'-tetrametil etilén diamina
- Tc: tejido conjuntivo
- Tm: tejido muscular
- TEM: Microscopía electrónica de transmisión
- Tris: tris hidroximetil amino metano
- UE: Unión Europea
- Z: discos Z
- Z-ARG-ARG-NHMeC: N - carbobenzoxy -L - arginil - arginil - 7 - amino - 4 - metilcumarina
- Z-PHE-ARG-NHMeC: N - carbobenzoxy -L - fenilalanil - arginil - 7 - amino - 4 - metilcumarina

VIII. ANEXOS

VIII. ANEXOS I

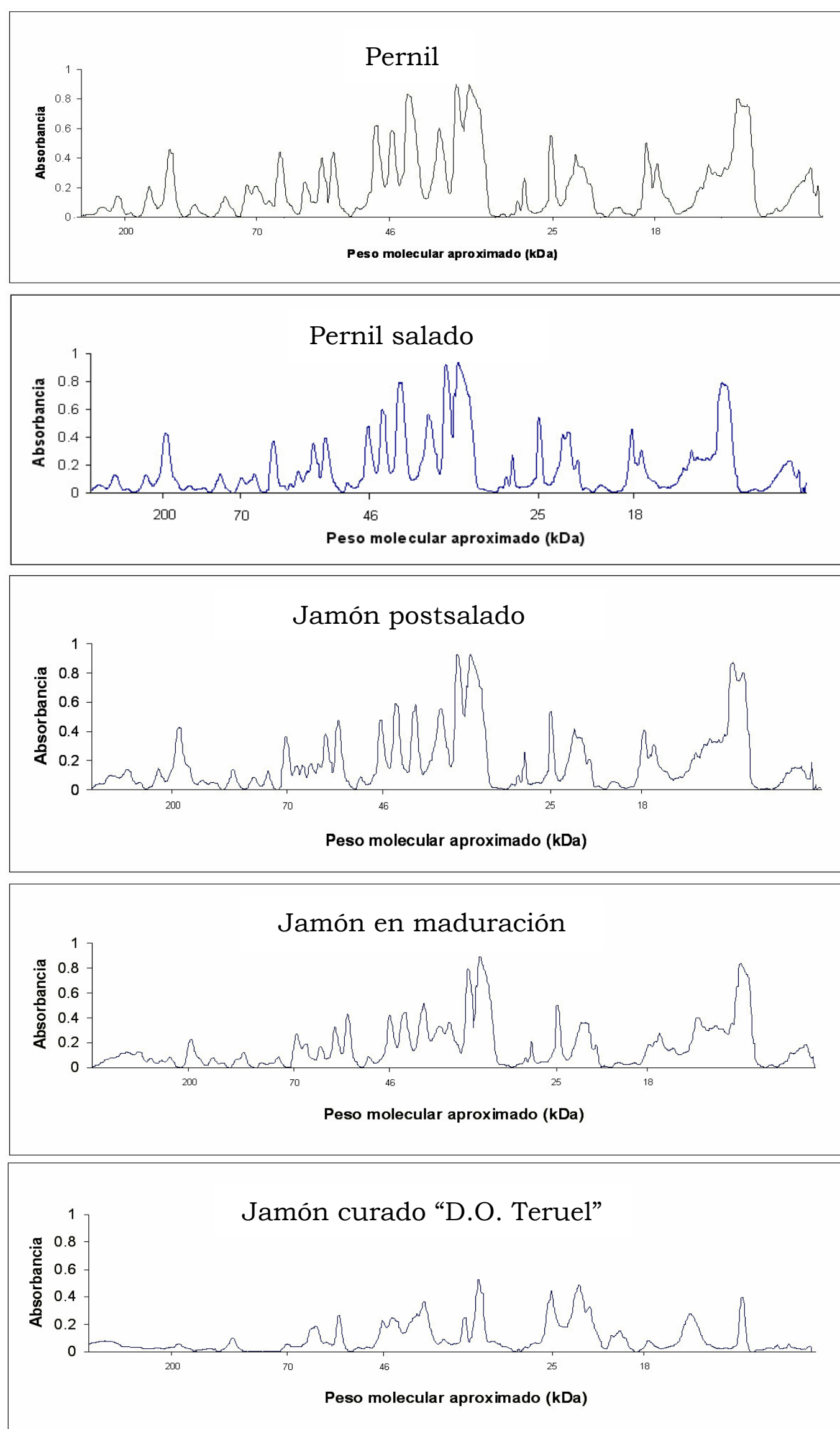


Figura VIII.1. Densitogramas de la fracción de proteínas totales del músculo *biceps femoris* en los distintos puntos del proceso de elaboración de jamón curado "D.O. Teruel".

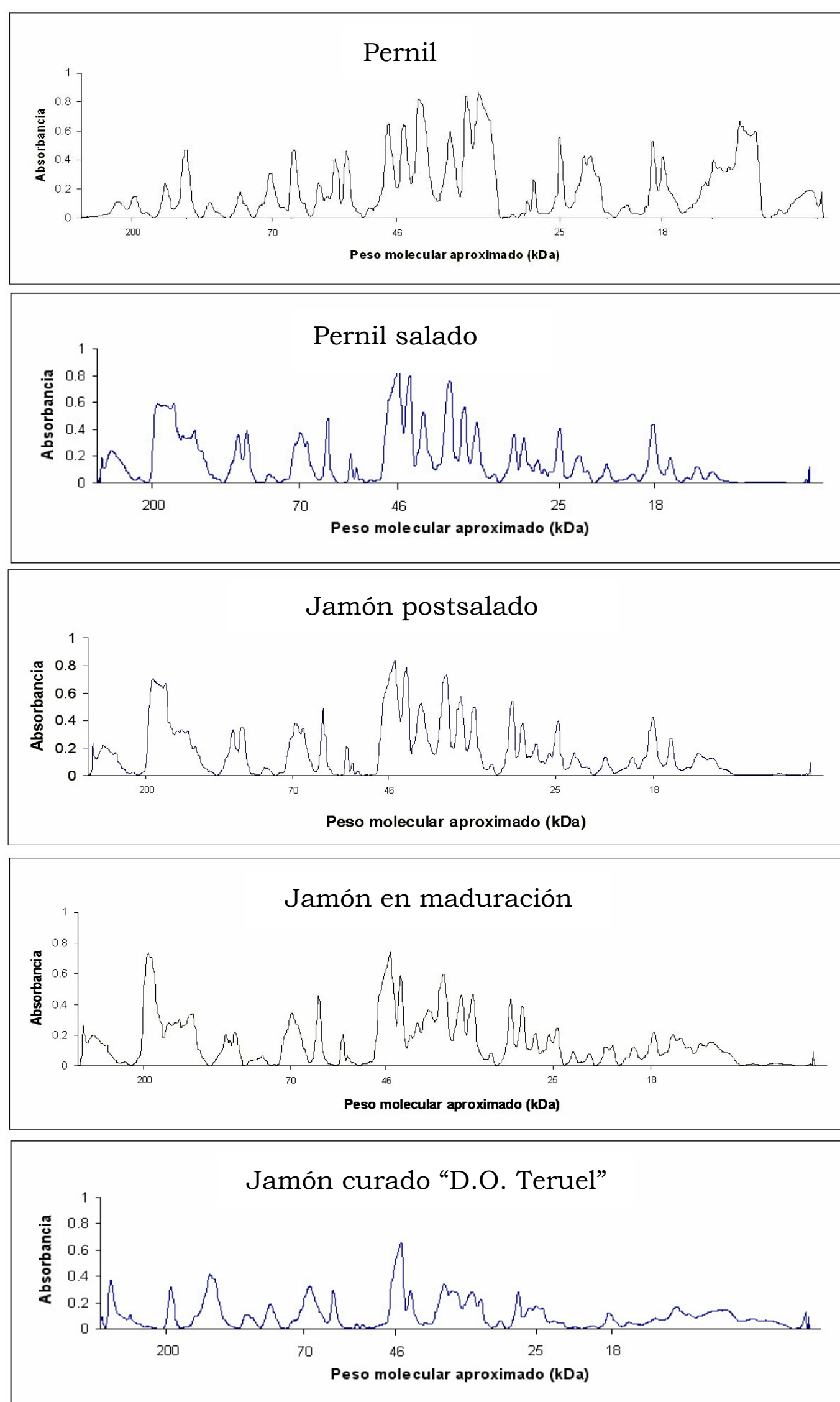


Figura VIII.2. Densitogramas de la fracción de proteínas totales del músculo *semimembranosus* en los distintos puntos del proceso de elaboración de jamón curado "D.O. Teruel".

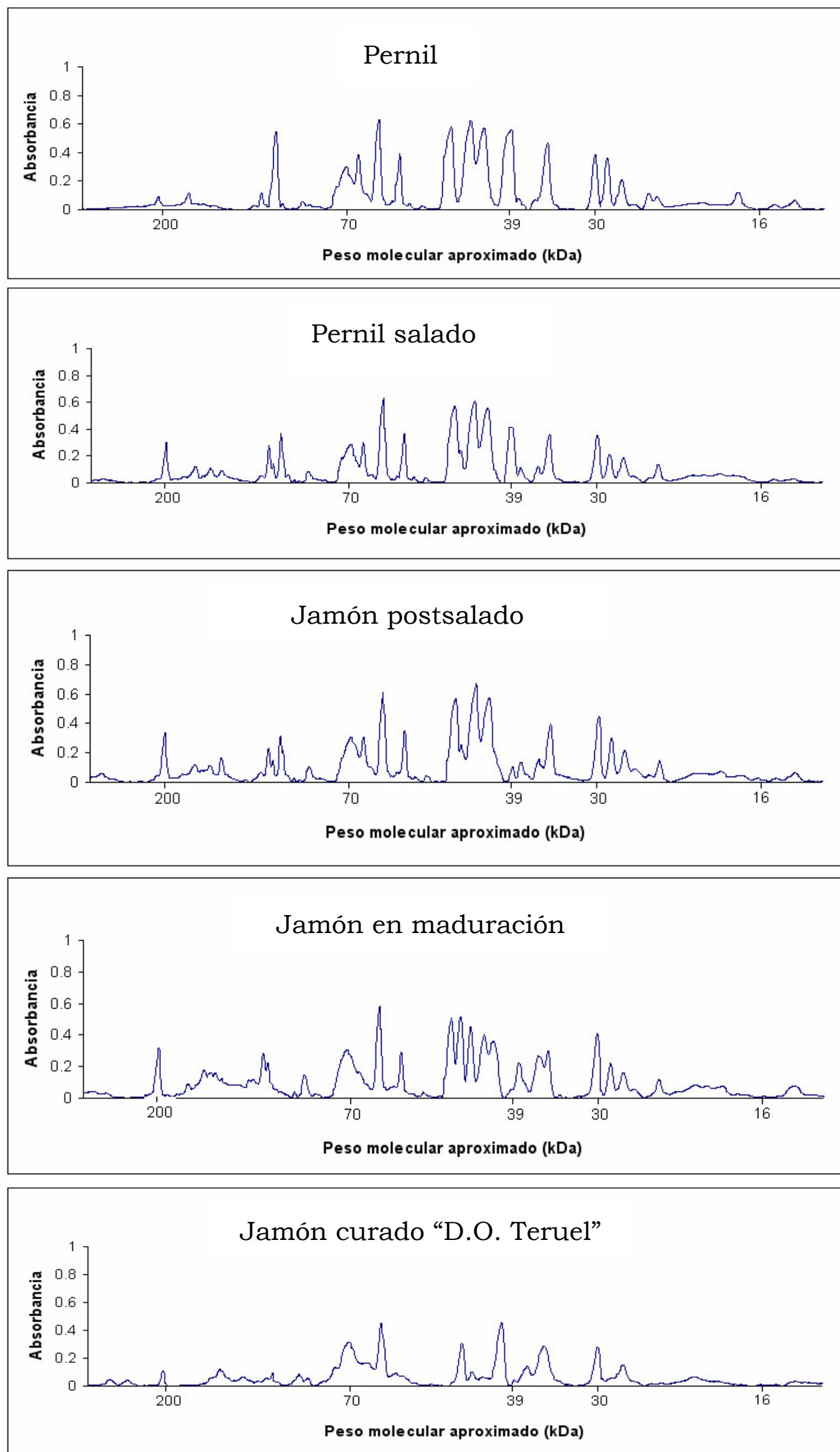


Figura VIII.3. Densitogramas de la fracción de proteínas sarcoplásmicas del músculo *biceps femoris* en los distintos puntos del proceso de elaboración de jamón "D.O. Teruel".

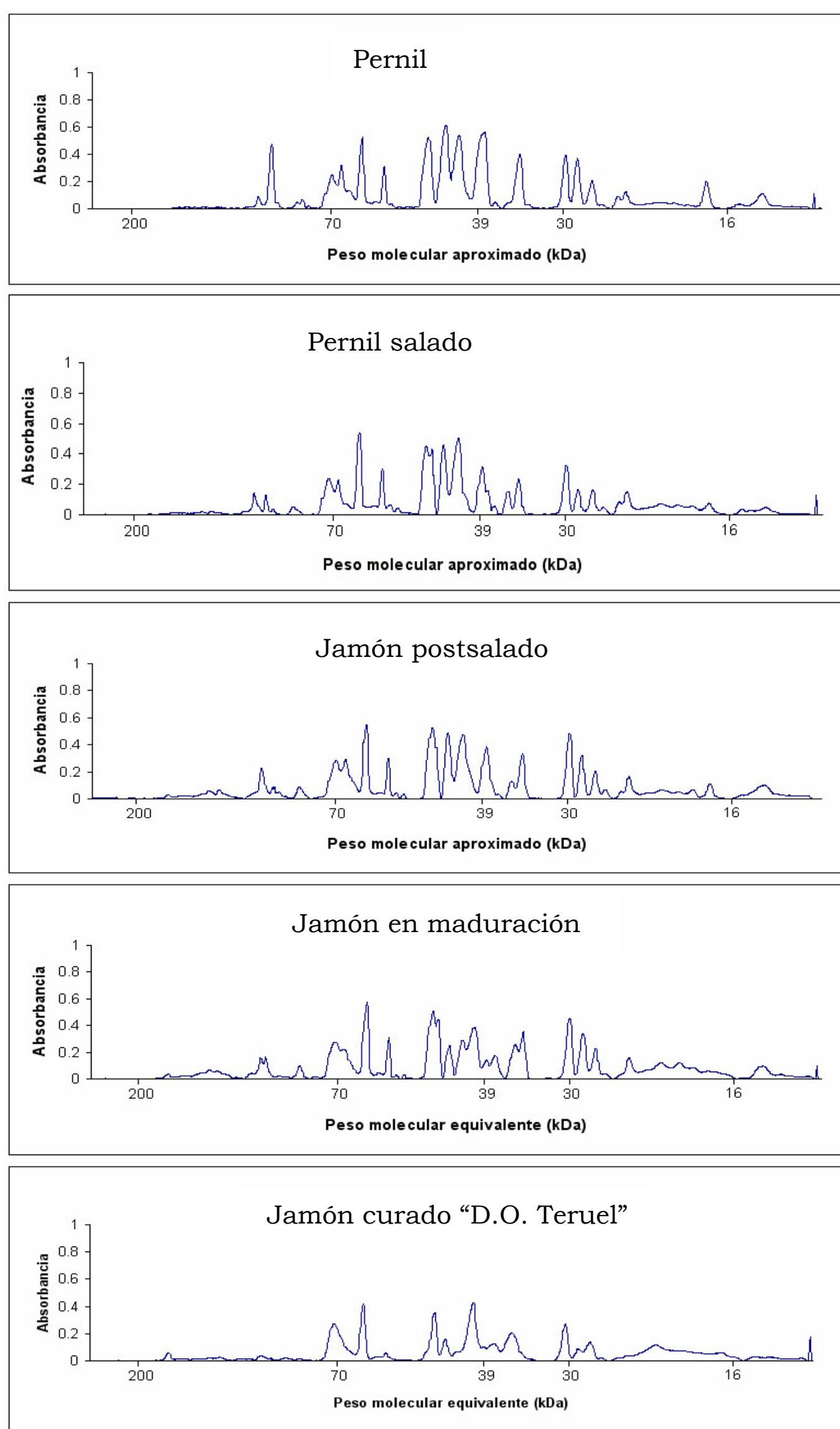


Figura VIII.4. Densitogramas de las proteínas sarcoplásmicas del músculo *semimembranosus* en los distintos puntos del proceso de elaboración de jamón curado "D.O. Teruel".

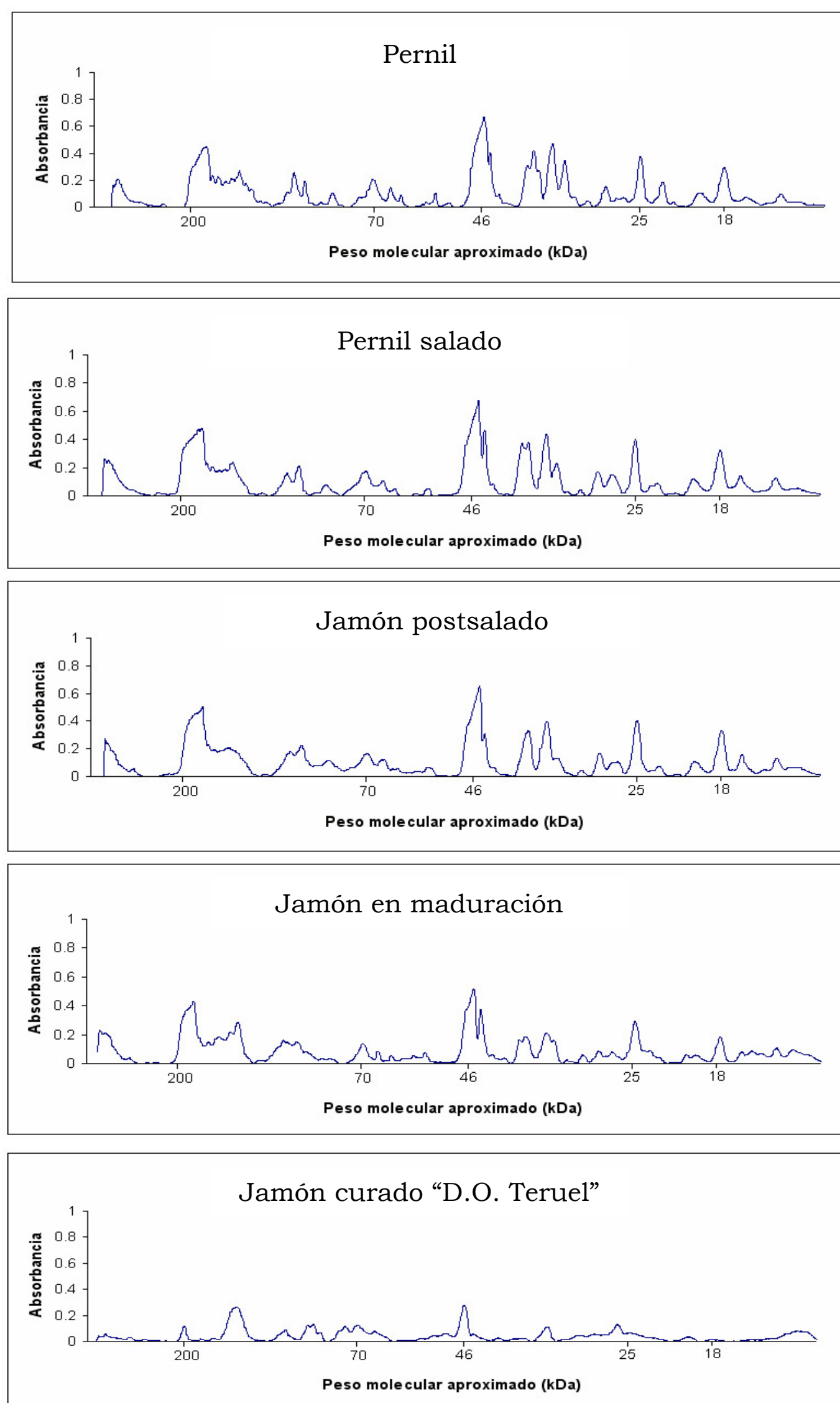


Fig. V.III.5. Densitogramas de la fracción de proteínas miofibrilares del músculo *biceps femoris* en los distintos puntos del proceso de elaboración de jamón curado "D.O. Teruel".

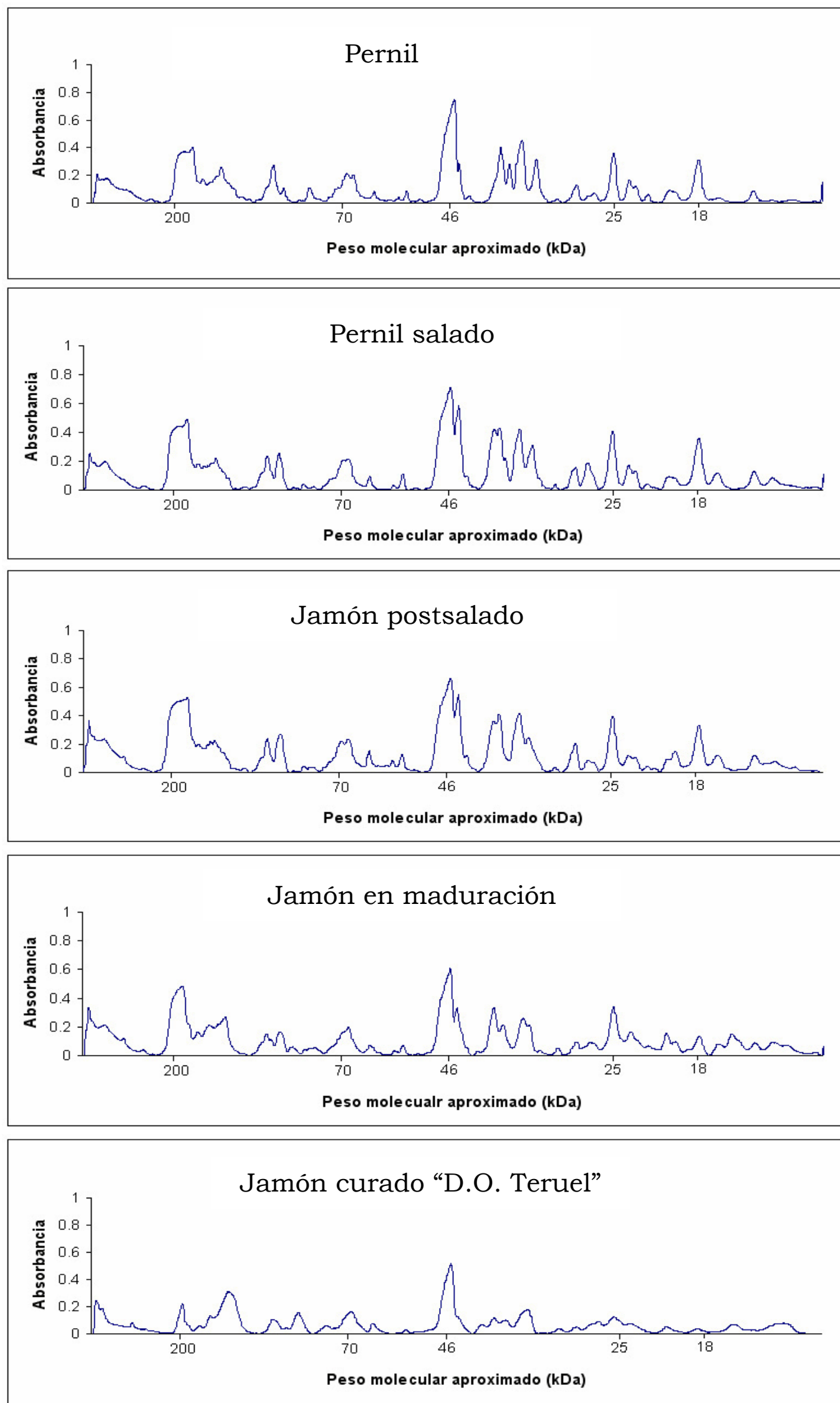


Fig. VIII.6. Densitogramas de la fracción de proteínas miofibrilares del músculo *semimembranosus* en los distintos puntos del proceso de elaboración de jamón curado "D.O. Teruel".

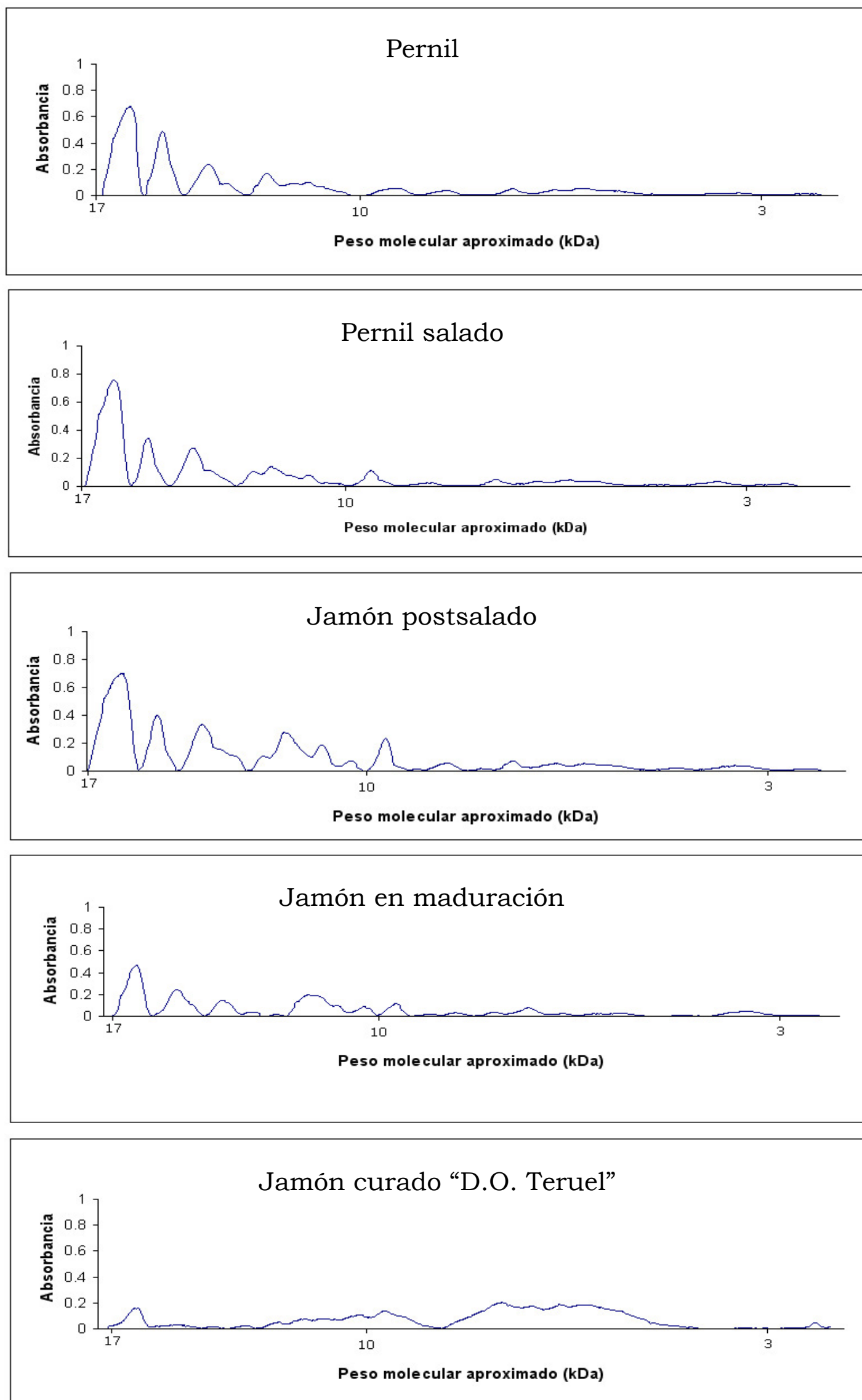


Figura VIII.7. Densitogramas de los péptidos de pesos moleculares entre 17-3 kDa en el músculo *biceps femoris* en los distintos puntos del proceso de elaboración de jamón curado "D.O. Teruel".

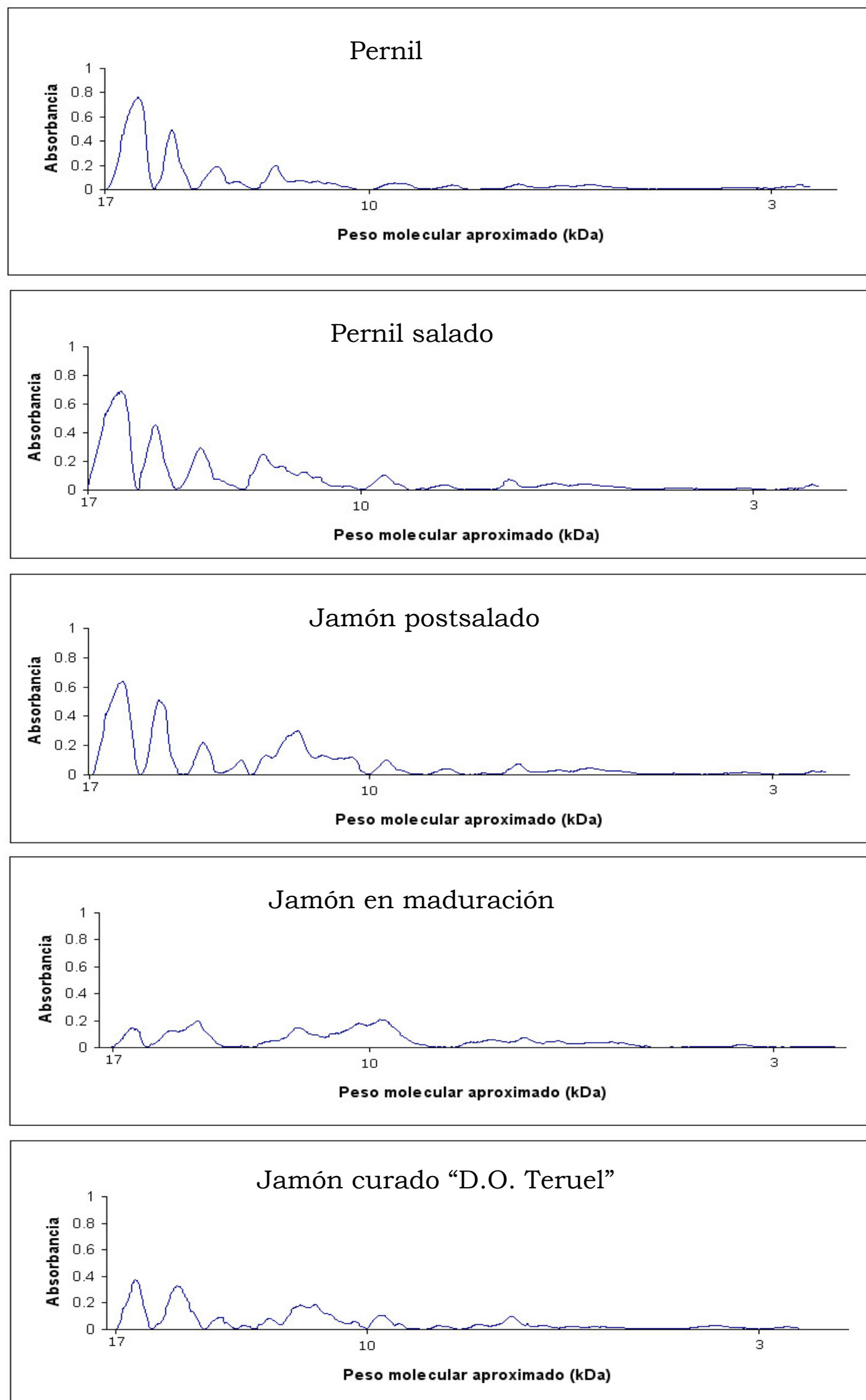


Figura VIII.8. Densitogramas de los péptidos de pesos moleculares entre 17-3 kDa en el músculo *semimembranosus* en los distintos puntos del proceso de elaboración de jamón curado "D.O. Teruel".

VIII. ANEXOS II

Tabla VIII.1. Desviación estándar de los valores de composición en ácidos grasos (g ácido graso / 100 g ácidos grasos totales) de la grasa intramuscular en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (Tabla IV.13 de Resultados y Discusión).

| FRACCIÓN TOTAL | <i>biceps femoris</i> | | | | | <i>semimembranosus</i> | | | | |
|-----------------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|------------------------|------|------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Ácidos grasos | | | | | | | | | | |
| C14:0 | 0.04 | 0.04 | 0.001 | 0.001 | 0.02 | 0.13 | 0.05 | 0.03 | 0.03 | 0.02 |
| C16:0 | 0.39 | 0.09 | 0.04 | 0.05 | 0.14 | 1.43 | 1.34 | 0.18 | 0.07 | 0.06 |
| C18:0 | 0.48 | 0.15 | 0.04 | 0.06 | 0.08 | 1.08 | 0.46 | 0.23 | 0.32 | 0.002 |
| Otros ¹ | 0.03 | 0.06 | 0.004 | 0.03 | 0.01 | 0.21 | 0.04 | 0.04 | 0.03 | 0.08 |
| Total saturados | 0.92 | 0.21 | 0.08 | 0.08 | 0.26 | 2.18 | 1.87 | 0.40 | 0.46 | 0.17 |
| C16:1 | 0.10 | 0.03 | 0.05 | 0.03 | 0.01 | 0.01 | 0.22 | 0.10 | 0.02 | 0.03 |
| C18:1 | 0.21 | 0.50 | 0.22 | 0.11 | 0.18 | 2.41 | 2.51 | 0.94 | 0.26 | 0.27 |
| Otros ² | 0.07 | 0.02 | 0.01 | 0.02 | 0.02 | 0.09 | 0.22 | 0.02 | 0.04 | 0.001 |
| Total monoinsaturados | 0.30 | 0.55 | 0.29 | 0.12 | 0.20 | 2.51 | 2.33 | 1.02 | 0.25 | 0.30 |
| C18:2 (ω-6) | 0.21 | 0.38 | 0.06 | 0.22 | 0.11 | 0.83 | 0.71 | 0.82 | 0.16 | 0.12 |
| C20:4 (ω-6) | 1.59 | 0.63 | 0.08 | 0.50 | 0.01 | 0.51 | 0.25 | 0.18 | 0.03 | 0.13 |
| Otros ³ | 0.03 | 0.04 | 0.005 | 0.01 | 0.03 | 0.15 | 0.08 | 0.06 | 0.02 | 0.04 |
| TOTAL ω-6 | 1.50 | 0.78 | 0.01 | 0.27 | 0.15 | 1.48 | 0.85 | 1.07 | 0.21 | 0.05 |
| C18:3 (ω-3) | 0.01 | 0.08 | 0.01 | 0.02 | 0.002 | 0.17 | 0.13 | 0.04 | 0.01 | 0.002 |
| C20:5 (ω-3) | 0.02 | 0.001 | 0.003 | 0.001 | 0.003 | 0.02 | 0.02 | 0.01 | 0.01 | 0.001 |
| C22:5 (ω-3) | 0.06 | 0.09 | 0.002 | 0.004 | 0.01 | 0.08 | 0.03 | 0.03 | 0.001 | 0.03 |
| Otros ⁴ | 1.61 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.003 | 0.16 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| TOTAL ω-3 | 1.69 | 0.16 | 0.02 | 0.03 | 0.00 | 0.23 | 0.09 | 0.09 | 0.01 | 0.04 |
| Total poliinsaturados | 0.32 | 0.78 | 0.02 | 0.24 | 0.15 | 1.26 | 0.83 | 1.15 | 0.22 | 0.09 |

¹: C12:0, C15:0, C17:0; ²: C14:1, C17:1; ³: C18:3 (ω-6), C20:2 (ω-6), C22:4 (ω-6); ⁴: C20:3 (ω-3), C22:6 (ω-3)

Tabla VIII.2. Desviación estándar de los valores de composición en ácidos grasos (g ácido graso / 100 g ácidos grasos totales) de la fracción de triglicéridos en los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (Tabla IV.14 de Resultados y Discusión).

| TRIGLICÉRIDOS | <i>biceps femoris</i> | | | | | <i>semimembranosus</i> | | | | |
|-----------------------|-----------------------|------|------|-------|------|------------------------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Ácidos grasos | | | | | | | | | | |
| C14:0 | 0.06 | 0.03 | 0.03 | 0.02 | 0.04 | 0.01 | 0.00 | 0.02 | 0.07 | 0.03 |
| C16:0 | 0.32 | 0.09 | 0.02 | 0.08 | 0.51 | 0.05 | 0.24 | 0.28 | 1.79 | 0.30 |
| C18:0 | 0.21 | 0.07 | 0.51 | 0.01 | 0.20 | 0.27 | 0.06 | 0.10 | 0.95 | 0.19 |
| Otros ¹ | 0.08 | 0.07 | 0.09 | 0.04 | 0.04 | 0.01 | 0.00 | 0.06 | 0.04 | 0.08 |
| Total saturados | 0.66 | 0.25 | 0.12 | 0.03 | 0.78 | 0.23 | 0.30 | 0.34 | 2.78 | 0.58 |
| C16:1 | 0.12 | 0.32 | 0.07 | 0.07 | 0.46 | 0.02 | 0.04 | 0.10 | 0.20 | 0.19 |
| C18:1 | 0.30 | 0.71 | 0.09 | 0.07 | 1.38 | 0.45 | 0.16 | 0.99 | 3.22 | 1.48 |
| Otros ² | 0.03 | 0.09 | 0.10 | 0.02 | 0.09 | 0.02 | 0.03 | 0.09 | 0.11 | 0.04 |
| Total monoinsaturados | 0.44 | 0.93 | 0.54 | 0.12 | 1.76 | 0.49 | 0.09 | 1.00 | 3.52 | 1.66 |
| C18:2 (ω-6) | 0.10 | 0.33 | 0.02 | 0.09 | 0.50 | 0.58 | 0.23 | 0.58 | 0.68 | 0.92 |
| C20:4 (ω-6) | 0.02 | 0.10 | 0.04 | 0.01 | 0.14 | 0.00 | 0.04 | 0.03 | 0.02 | 0.03 |
| Otros ³ | 0.00 | 0.09 | 0.07 | 0.01 | 0.10 | 0.02 | 0.03 | 0.09 | 0.05 | 0.04 |
| TOTAL ω-6 | 0.12 | 0.38 | 0.04 | 0.10 | 0.75 | 0.60 | 0.24 | 0.69 | 0.65 | 0.98 |
| C18:3 (ω-3) | 0.02 | 0.05 | 0.12 | 0.004 | 0.16 | 0.06 | 0.01 | 0.06 | 0.04 | 0.05 |
| C20:5 (ω-3) | 0.00 | 0.01 | 0.09 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.01 |
| C22:5 (ω-3) | 0.00 | 0.03 | 0.01 | 0.001 | 0.08 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.05 |
| Otros ⁴ | 0.16 | 0.44 | 0.02 | 0.005 | 0.10 | 0.60 | 0.57 | 0.05 | 0.04 | 0.02 |
| TOTAL ω-3 | 0.18 | 0.46 | 0.01 | 0.001 | 0.14 | 0.55 | 0.58 | 0.11 | 0.01 | 0.10 |
| Total poliinsaturados | 0.30 | 0.83 | 0.03 | 0.09 | 0.89 | 0.05 | 0.35 | 0.80 | 0.65 | 1.05 |

¹: C12:0, C15:0, C17:0; ²: C17:1, C20:1; ³: C18:3 (ω-6), C20:2 (ω-6), C20:3 (ω-6), C22:4 (ω-6), C22:3 (ω-6), C20:3 (ω-3), C22:6 (ω-3)

Tabla VIII.3. Desviación estándar de los valores de composición en ácidos grasos (g ácido graso / 100 g ácidos grasos totales) de la fracción de fosfolípidos de la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (Tabla IV.15 de Resultados y Discusión).

| FOSFOLÍPIDOS | <i>biceps femoris</i> | | | | | <i>semimembranosus</i> | | | | |
|-----------------------|-----------------------|-------|------|------|------|------------------------|------|------|-------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Ácidos grasos | | | | | | | | | | |
| C14:0 | 0.03 | 0.28 | 0.24 | 0.01 | 0.44 | 0.04 | 0.07 | 0.21 | 0.33 | 0.24 |
| C16:0 | 0.29 | 3.36 | 0.51 | 4.89 | 3.11 | 1.88 | 2.29 | 3.63 | 2.35 | 0.83 |
| C18:0 | 0.22 | 0.42 | 1.28 | 0.04 | 1.18 | 1.07 | 1.21 | 1.68 | 1.75 | 1.22 |
| Otros ¹ | 0.18 | 0.40 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.28 | 0.38 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Total saturados | 0.73 | 4.46 | 2.04 | 5.43 | 4.72 | 3.28 | 3.95 | 5.52 | 4.42 | 2.29 |
| C16:1 | 0.01 | 0.42 | 0.00 | 0.33 | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.21 | 0.00 |
| C18:1 | 0.29 | 3.86 | 0.82 | 1.70 | 4.64 | 0.63 | 0.88 | 1.77 | 4.37 | 2.83 |
| Otros ² | 0.02 | 0.76 | 0.94 | 1.37 | 0.89 | 0.18 | 1.09 | 0.13 | 1.25 | 1.14 |
| Total monoinsaturados | 0.33 | 5.04 | 1.76 | 3.40 | 5.53 | 0.81 | 1.96 | 1.90 | 5.83 | 3.96 |
| C18:2 (ω-6) | 0.93 | 1.44 | 0.52 | 1.62 | 2.22 | 0.20 | 0.89 | 0.86 | 1.71 | 2.24 |
| C20:4 (ω-6) | 0.08 | 5.02 | 0.83 | 0.04 | 0.35 | 0.21 | 0.24 | 2.92 | 3.93 | 1.26 |
| Otros ³ | 0.26 | 0.60 | 0.00 | 0.72 | 0.73 | 0.58 | 0.25 | 0.56 | 1.48 | 1.79 |
| TOTAL <i>n</i> -6 | 1.27 | 7.06 | 1.35 | 2.38 | 3.30 | 0.98 | 1.37 | 4.34 | 7.12 | 5.30 |
| C18:3 (ω-3) | 0.03 | 0.10 | 0.00 | 0.09 | 0.00 | 0.02 | 0.07 | 0.37 | 0.23 | 0.00 |
| C20:5 (ω-3) | 0.01 | 0.10 | 0.00 | 0.02 | 0.00 | 0.01 | 0.02 | 0.00 | 0.24 | 0.00 |
| C22:5 (ω-3) | 0.03 | 0.11 | 0.00 | 0.79 | 0.00 | 0.02 | 0.05 | 0.93 | 0.00 | 0.00 |
| Otros ⁴ | 0.00 | 6.31 | 0.00 | 0.99 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 3.24 | 5.50 | 0.00 |
| TOTAL <i>n</i> -3 | 0.07 | 6.61 | 0.00 | 1.90 | 0.00 | 0.05 | 0.15 | 4.54 | 5.97 | 0.00 |
| Total poliinsaturados | 1.27 | 13.36 | 1.35 | 3.37 | 3.30 | 0.99 | 1.37 | 7.58 | 12.62 | 5.30 |

¹: C12:0, C15:0, C17:0; ²: C17:1, C20:1; ³: C18:3 (ω-6), C20:2 (ω-6), C20:3 (ω-6), C22:4 (ω-6), ⁴: C20:3 (ω-3), C22:6 (ω-3)

Tabla VIII.4. Desviación estándar de los valores de composición en ácidos grasos (g ácido graso / 100 g ácidos grasos totales) de la fracción de ácidos grasos libres de la grasa intramuscular de los músculos *biceps femoris* y *semimembranosus* en el pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (Tabla IV.16 de Resultados y Discusión).

| ÁCIDOS GRASOS LIBRES | <i>biceps femoris</i> | | | | | <i>semimembranosus</i> | | | | |
|-----------------------|-----------------------|------|------|------|------|------------------------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Ácidos grasos | | | | | | | | | | |
| C14:0 | 0.15 | 0.19 | 0.31 | 0.11 | 0.01 | 0.23 | 0.03 | 0.03 | 0.05 | 0.02 |
| C16:0 | 0.45 | 1.47 | 1.70 | 0.72 | 0.66 | 0.61 | 7.79 | 0.66 | 0.63 | 0.20 |
| C18:0 | 0.14 | 2.02 | 0.59 | 0.10 | 0.16 | 0.85 | 0.65 | 1.85 | 1.23 | 0.52 |
| Otros ¹ | 0.21 | 0.70 | 0.10 | 0.06 | 0.03 | 0.12 | 0.93 | 1.73 | 0.16 | 0.03 |
| Total saturados | 0.66 | 3.83 | 2.70 | 0.99 | 0.84 | 0.60 | 8.10 | 4.22 | 0.64 | 0.69 |
| C16:1 | 0.77 | 0.34 | 0.24 | 0.08 | 0.06 | 0.97 | 0.81 | 0.10 | 0.03 | 0.03 |
| C18:1 | 1.06 | 1.21 | 1.11 | 0.18 | 0.50 | 2.15 | 0.57 | 0.73 | 0.63 | 0.39 |
| Otros ² | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.06 |
| Total monoinsaturados | 0.28 | 1.54 | 1.35 | 0.10 | 0.56 | 3.12 | 1.38 | 0.83 | 0.60 | 0.48 |
| C18:2 (ω-6) | 0.13 | 1.50 | 0.77 | 0.79 | 0.38 | 2.54 | 1.41 | 0.53 | 0.14 | 0.48 |
| C20:4 (ω-6) | 1.23 | 0.50 | 0.31 | 0.81 | 0.19 | 0.80 | 0.31 | 0.03 | 0.33 | 5.00 |
| Otros ³ | 0.99 | 0.49 | 0.00 | 0.28 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.39 | 0.16 |
| TOTAL n-6 | 0.36 | 2.00 | 1.09 | 0.26 | 0.21 | 3.34 | 1.71 | 0.57 | 0.59 | 5.63 |
| C18:3 (ω-3) | 0.33 | 0.46 | 0.17 | 0.05 | 0.08 | 0.60 | 1.42 | 0.04 | 0.04 | 0.04 |
| C20:5 (ω-3) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.05 | 0.04 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.26 | 0.01 |
| C22:5 (ω-3) | 0.00 | 1.64 | 0.00 | 0.74 | 0.03 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.13 | 0.08 |
| Otros ⁴ | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.06 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.27 | 4.86 |
| TOTAL n-3 | 0.33 | 1.20 | 0.17 | 0.85 | 0.16 | 0.60 | 1.42 | 0.04 | 0.29 | 4.79 |
| Total poliinsaturados | 0.69 | 2.54 | 1.26 | 1.11 | 0.05 | 2.73 | 0.29 | 0.61 | 0.75 | 0.90 |

¹: C12:0, C15:0, C17:0; ²: C17:1, C20:1; ³: C18:3 (ω-6), C20:2 (ω-6), C20:3 (ω-6), C22:4 (ω-6), ⁴: C20:3 (ω-3), C22:6 (ω-3)

Tabla VIII.5. Desviación estándar de los valores de composición en ácidos grasos (g ácido graso /100 g ácidos grasos totales) de la grasa asociada al músculo *biceps femoris* y de pernil (1), pernil salado (2), jamón postsalado (3), jamón en maduración (4) y jamón curado “D.O. Teruel” (5). (Tabla IV.18 de Resultados y Discusión).

| FRACCIÓN TOTAL | Grasa asociada la músculo <i>biceps femoris</i> | | | | |
|-----------------------|--|-------|-------|------|-------|
| Ácidos grasos | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| C14:0 | 0.10 | 0.004 | 0.05 | 0.13 | 0.03 |
| C16:0 | 0.04 | 0.04 | 0.53 | 3.45 | 0.15 |
| C18:0 | 0.57 | 0.45 | 0.36 | 1.43 | 0.60 |
| Otros ¹ | 0.03 | 0.09 | 0.02 | 0.21 | 0.01 |
| Total saturados | 0.40 | 0.50 | 0.96 | 5.22 | 0.73 |
| C16:1 | 0.38 | 0.06 | 0.01 | 0.35 | 0.07 |
| C18:1 | 0.16 | 1.57 | 1.05 | 6.39 | 3.53 |
| Otros ² | 0.00 | 0.00 | 0.02 | 0.04 | 0.01 |
| Total monoinsaturados | 0.22 | 1.63 | 1.01 | 6.00 | 3.61 |
| C18:2 (n-6) | 0.11 | 0.35 | 0.06 | 0.95 | 0.41 |
| Otros ³ | 0.02 | 0.07 | 0.01 | 0.02 | 0.01 |
| TOTAL (n-6) | 0.08 | 0.28 | 0.05 | 0.93 | 0.42 |
| C18:3 (n-3) | 0.003 | 0.02 | 0.01 | 0.23 | 0.02 |
| C20:5 (n-3) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| C22:5 (n-3) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Otros ⁴ | 0.01 | 0.002 | 0.001 | 0.03 | 0.002 |
| TOTAL (n-3) | 0.00 | 0.03 | 0.01 | 0.26 | 0.02 |
| Total poliinsaturados | 0.08 | 0.31 | 0.04 | 1.19 | 0.44 |

¹: C12:0, C15:0, C17:0; ²: C17:1, C20:1; ³: C18:3 (n-6), C20:2 (n-6), C20:3 (n-6), C22:4 (n-6),
⁴: C20:3 (n-3), C22:6 (n-3).

