



UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

FACULTAD DE VETERINARIA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
UNIDAD DE TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

**INFLUENCIA DE LA RAZA Y DE LA
ALIMENTACIÓN SOBRE EL
CONTENIDO Y CARACTERÍSTICAS DE
LA GRASA INTRAMUSCULAR DEL
LOMO DE CERDO IBÉRICO: EFECTO
SOBRE PARÁMETROS
DETERMINANTES DE LA CALIDAD**

CÁCERES 2006

Memoria presentada por la Licenciada
Sonia Ventanas Canillas para optar al grado
de Doctor de Veterinaria

***Edita: Universidad de Extremadura
Servicio de Publicaciones***

Caldereros 2. Planta 3^a
Cáceres 10071
Correo e.: publicac@unex.es
<http://www.unex.es/publicaciones>



UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

FACULTAD DE VETERINARIA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
UNIDAD DE TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

EL DR. JORGE RUIZ CARRASCAL, PROFESOR TITULAR DE LA UNIDAD DE TECNOLOGÍA Y BIOQUÍMICA DE LOS ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA,

INFORMA:

Que la Tesis Doctoral presentada por la Licenciada Sonia Ventanas Canillas, “Influencia de la raza y de la alimentación sobre el contenido y características de la grasa intramuscular del lomo de cerdo Ibérico: efectos sobre parámetros determinantes de la calidad”, ha sido realizada bajo mi dirección en la Unidad de Tecnología y Bioquímica de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria. Hallándose concluida y reuniendo a mi entender las condiciones necesarias, autorizo su presentación para su defensa ante el tribunal pertinente.

Cáceres, Mayo de 2006

Fdo. Jorge Ruiz Carrascal



UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

FACULTAD DE VETERINARIA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
UNIDAD DE TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

EL DR. JESÚS VENTANAS BARROSO, CATEDRÁTICO DE UNIVERSIDAD DE LA UNIDAD DE TECNOLOGÍA Y BIOQUÍMICA DE LOS ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA,

INFORMA:

Que la Tesis Doctoral presentada por la Licenciada Sonia Ventanas Canillas, “Influencia de la raza y de la alimentación sobre el contenido y características de la grasa intramuscular del lomo de cerdo Ibérico: efectos sobre parámetros determinantes de la calidad”, ha sido realizada bajo mi dirección en la Unidad de Tecnología y Bioquímica de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria. Hallándose concluida y reuniendo a mi entender las condiciones necesarias, autorizo su presentación para su defensa ante el tribunal pertinente.

Cáceres, Mayo de 2006

Fdo. Jesús Ventanas Barrososo

En estas líneas desearía expresar mi sincero agradecimiento a todas aquellas personas e instituciones que han contribuido al desarrollo de la presente Tesis Doctoral.

A la empresa "Dehesa Serrana" y a su director técnico Antonio Librán por permitirnos la realización de parte del procesado en sus instalaciones y por sus consejos y ayuda durante el secado-maduración de los lomos.

A la empresa "DSM Nutricional Products" por cedernos de manera desinteresada la vitamina E para la suplementación de los piensos.

A AECERIBER (Doña Elena Diéguez) por el apoyo que nos ha prestado tanto financiero como técnico y personal (proyecto INTERREG-FESERPAE)

Al Censyra (Dr. Rafael Calero), a Ibergenética (Doña Paloma Ledesma) y a la Consejería de Agricultura y Medio Ambiente de la Junta de Extremadura (Dr. Luis Prieto) por habernos facilitado los animales requeridos para la realización de este trabajo.

Al Ministerio de Educación y Ciencia, por la concesión de una beca de Formación de Personal Universitario (FPU) que me ha permitido desarrollar este trabajo de investigación durante los últimos cuatro años.

Esta tesis Doctoral se ha realizado dentro del proyecto de investigación titulado: "Hacia el establecimiento de predictores de calidad en la materia prima y en productos del cerdo ibérico mediante parámetros físico-químicos (ULTRAFAT)" (Project AGL 2001-6932-01)" concedido por el Ministerio de Ciencia y Tecnología.

A los miembros del departamento de Tecnología de los Alimentos de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV), en especial a Laura Niñosles y al Doctor Jose Benedito, por la realización de las medidas de ultrasonidos.

A los Doctores Juan Florencio Tejeda y Elena González de la Unidad de Tecnología de los Alimentos y de Nutrición de la Escuela de Ingenierías Agrarias de la Universidad de Extremadura (Badajoz), por la realización de las determinaciones del α -tocoferol.

Al personal docente, investigador, PAS y estudiantes de la Facultad de Veterinaria de Cáceres que participaron de forma desinteresada en el estudio de consumidores.

A los miembros del "Laboratoire de Génie des Procédés Alimentaires et Biotechnologiques "(GPAB) de Dijon (Francia) y a su directora Andrée Voilley por su amable acogida durante mi estancia en Otoño del 2004. En especial a Cecile y Alice por su compañía y ayuda en el laboratorio. A todos mis amigos españoles (Erasmus) de Dijon, en especial a mis compañeros de residencia, Jose y Román por su apoyo y amistad.

A los técnicos de laboratorio, Ana Galaz y Natividad Hurtado, que participaron en las determinaciones analíticas. En especial a Ana Galaz, por brindarme su ayuda y por su excelente trabajo en el laboratorio.

Al Dr. Jorge Ruiz, co-director de esta Tesis, por la confianza, dedicación y entusiasmo mostrados en este y en todo su trabajo. Por las palabras de apoyo y los consejos y porque trabajar a su lado es realmente sencillo y agradable.

A todos los compañeros de Tecnología e Higiene, en especial a Charo, Diana y David por su compañía y amistad.

A mis estimados padres, Jesús y Jacqueline, que siempre me han mostrado su apoyo y han valorado mi trabajo. Por su paciencia, su dedicación y su ayuda. Porque su actitud es y será siempre un ejemplo a seguir para mí.

A Jesús, tu sonrisa y entusiasmo me acompañarán siempre.

A mis abuelos, por su cariño y compañía. A mi tío Sebastián, por las palabras de apoyo y de ánimo a pesar de la distancia.

A mi querido Mario, compañero en la vida y en el trabajo. Porque la ilusión, dedicación y esfuerzo puestas en esta Tesis y en todo mi trabajo constituyen un proyecto de futuro para los dos. A tu familia, cuyo cariño me hace sentir como una más entre vosotros.

A mis amigos, en especial a Ana y Antolín, por todas las experiencias que hemos vivido juntos y las que nos quedan....

A mis amigas "de siempre" (Carolina, Maria Simón, Rubia, Belén, Nia...), por el cariño, los buenos momentos y la amistad compartida a lo largo de tantos años.

A TODOS GRACIAS

A MI PADRE
(En memoria de Jesús Ventanas Canillas)

Era la primera noche que viajaba sola, pero no estaba asustada; por el contrario, no parecía una aventura agradable y excitante aquella profunda libertad en la noche. La sangre, después del viaje largo y cansado, me empezaba a circular por las piernas entumecidas y con una sonrisa de asombro miraba la gran estación de Francia y los grupos que estaban aguardando el expreso y los que llegábamos con tres horas de retraso.

El olor especial, el gran rumor de la gente, las luces siempre tristes, tenían para mí un gran encanto, ya que envolvía todas mis impresiones en la maravilla de haber llegado por fin a una ciudad grande, adorada en mis sueños por desconocida.

(NADA, Carmen Laforet, 1945)

*“Dejamos de temer aquello que se ha aprendido a entender”
(Marie Curie)*

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
DISEÑO EXPERIMENTAL	27
PLANTEAMIENTOS Y OBJETIVOS	35
CAPÍTULOS	41
I Características De La Grasa Subcutánea E Intramuscular (<i>Longissimus Dorsi</i>) De Cerdo Ibérico: Influencia De La Genética Y La Alimentación.....	43
II. Protein And Lipid Oxidation In <i>Longissimus Dorsi</i> And Dry Cured Loin From Iberian Pigs As Affected By Crossbreeding And Diet.....	89
III. Caracterización Físico Química Del Lomo Curado De Cerdo Ibérico.....	115
IV. Sensory Characteristics of Iberian Dry-Cured Loins: Influence Of Crossbreeding And Rearing System.....	161
V. Preference And Juiciness Of Iberian Dry-Cured Loin As Affected By Intramuscular Fat Content, Crossbreeding And Rearing System.....	181
VI. Phospholipid Oxidation, Nonenzymatic Browning Development And Volatile Compounds Generation In Model Systems Containing Liposomes From Porcine <i>Longissimus Dorsi</i> And Selected Amino Acids.....	199
VII. Análisis De Compuestos Volátiles En Lomos De Cerdo Ibérico Con Diferente Contenido En Grasa Intramuscular Durante La Fase De Secado Maduración.....	223
VIII. Influencia De La Genética Y De La Alimentación Sobre El Perfil De Compuestos Volátiles Del Lomo Curado De Cerdo Ibérico	255
DISCUSIÓN CONJUNTA	295
CONCLUSIONES	317
ANEXO	321

INTRODUCCIÓN

I. El cerdo Ibérico

Con la denominación de cerdo Ibérico se hace referencia a una “agrupación racial Ibérica” o “grupo Ibérico” derivado del cerdo arcaico mediterráneo (*Sus mediterraneus* o *Sus scrofa meridionales*) asentado en las áreas meridionales y centrales de la península Ibérica (principalmente en Extremadura, Andalucía y en el Alentejo Portugués) constituida por diferentes variantes que se distinguen por presentar una serie de características productivas y fenotípicas comunes. Dentro de estas variedades o líneas las más significativas son: Retinto, Lampiño, Entrepelado, Torbiscal, Mamellado, Dorado gaditano y Manchado de Jabugo (Dieguez, 2000). Según Gómez Nieves y cols. (2005) actualmente aparecen como tipos más extendidos el Retinto Extremeño, de capas que van desde el tono canela hasta el rojo oscuro o retinto provisto de cerdas de igual coloración (líneas Silvela, Villalón, Valdesequera) y el Entrepelado, de coloración oscurecida y pelo ralo. Con escaso número de representantes aparece el Lampiño, de coloración variable desde un acentuado negro hasta tonos gris ceniza y totalmente carentes de cerdas, el Manchado de Jabugo, de capa rubia con grandes manchas oscuras, el Mamellado, entroncado con la variedad retinta de la que se diferencia por presentar mamellas y el Dorado Gaditano, de capa roja viva y dorada reducido a un único núcleo existente en la provincia de Cádiz. Un cifra estimada y aproximada del censo actual cifra en 200.000 el número de cerdas reproductoras, de las que no más del 45% serían cerdas Ibéricas puras, correspondiendo el resto a cruces con otras razas (Gómez-Nieves y cols., 2005).

En los últimos 7 años se ha venido produciendo un aumento del número de cabezas (figura 1) coincidiendo con el incremento en el consumo tanto de los productos curados como de sus carnes frescas habiéndose incrementado su número en un 77% respecto a 1998. (Cruz., 2005). La cabaña porcina Ibérica ha pasado de suponer un 65 de la cabaña porcina nacional en 1998 a un 9.2% en 2004 (Cruz., 2005).

Las características más destacables de la raza Ibérica pueden resumirse en: elevada rusticidad consecuencia de la adaptación al ecosistema de la dehesa, tendencia a acumular grasa, alto nivel de vetado de los músculos y baja o nula susceptibilidad al estrés. El carácter rústico de esta raza autóctona se pone de manifiesto en su mayor capacidad para resistir condiciones climatológicas adversas, así como cambios bruscos de las mismas y en soportar periodos prolongados de escasez de alimentos consecuencia de las variaciones estacionales y etapas de baja producción de alimentos. Por tanto, esta raza presenta una excelente capacidad para conseguir un aprovechamiento óptimo de los recursos naturales, mientras que desde el punto de vista productivo y reproductivo, presenta una serie de

deficiencias en comparación con las razas de cerdos comerciales (peores índices de transformación de los alimentos, mala conformación cárnica, baja prolificidad, bajo índice de crecimiento etc.), las cuales se han conseguido mitigar mediante el cruce con otras razas porcinas más seleccionadas, principalmente la raza Duroc.

Figura 1.- Evolución y distribución del censo de ganado porcino Ibérico (tomado de Cruz, 2005)



El marcado carácter adipogénico de la raza Ibérica es uno de los factores más importantes que determinan la calidad de los productos derivados (López-Bote, 1998). En consecuencia las características de la grasa, principalmente la grasa intramuscular son determinantes para la obtención de productos de alta calidad sensorial. Por tanto, es esencial conocer las repercusiones que cambios en su composición y contenido tienen sobre el producto final, así como los factores que determinan dichas propiedades.

La orientación tradicional de la explotación del cerdo Ibérico se ha centrado en la producción chacinera, mientras que el sector del cerdo industrial (razas seleccionadas) estaría más enfocado a la producción de carne para su consumo en fresco. No obstante, en los últimos años se ha extendiendo el consumo de carne fresca de cerdo Ibérico en forma

de piezas cárnicas entre los que destaca el secreto o la presa que han alcanzado una alta consideración y aceptación por parte de los consumidores (Mayoral y cols., 2005).

El ciclo productivo tradicional del cerdo Ibérico esta constituido por 3 fases diferenciadas: (i) La cría (desde el parto hasta los 23 Kg. aproximadamente, durante la cual los animales son destetados y comienzan una alimentación sólida), (ii) la fase de recría, que es una etapa de crecimiento y transición (hasta los 90-100 Kg., donde se simultanea el aprovechamiento de los recursos pastables y la complementación con piensos adecuados) y (iii) la etapa de cebo (hasta los 160 kg o 14 @). Tradicionalmente este ciclo productivo se caracterizaba por alternar periodos de abundancia y escasez de alimentos, coincidiendo éstos últimos principalmente en los momentos en los que el cerdo estaba desarrollando su tejido muscular. Por el contrario, los periodos de abundancia de alimentos coincidían con la fase de cebo, cuando el animal esta ya plenamente desarrollado, de forma que la mayor parte de la energía de la dieta la destinaba a la síntesis de grasa. Por tanto una de las fases más importantes y que tiene una mayor repercusión en la calidad de la materia prima es la fase de cebo. Tradicionalmente, el cebo clásico del cerdo Ibérico se realizaba “en montanera” es decir, basado en una explotación en extensivo aprovechando los recursos naturales, hierba y bellotas principalmente, en la dehesa. La alimentación en montanera esta basada en la bellota, de la que el animal aprovecha sólo la pulpa de la semilla, ya que desecha el cascabullo o cúpula, y la cáscara (Espárrago y cols., 1999a). El cerdo aprovecha la bellota pudiendo llegar a consumir una gran cantidad diaria, entre 7-10 Kg. (Espárrago y cols., 1999a) La cantidad de hierba consumida por los animales durante la montanera es un factor aún no esclarecido pero se estima que aproximadamente el 70% de las necesidades del animal se cubren con la bellota, y el 30% con la hierba. Tradicionalmente se considera que la ganancia en montanera debería estar por encima de 5-6 @, si bien la tendencia es a reducir la ganancia por animal con el objetivo de incrementar la carga ganadera. En este sentido la Norma de Calidad (BOE, 2001) establece para los animales clasificados en el grupo de alimentación de bellota una reposición mínima en montanera de 4 @. La reducción del tiempo de estancia en montanera aumenta el rendimiento productivo aunque disminuye la calidad de los productos derivados. En los últimos años, se ha tendido a reducir la estancia en montanera de 90 a 60 días o incluso menos, pasando de tasas de engorde de 5-6 @ en montanera a únicamente 3-4 @. De esta forma se puede incrementar el número de cerdos de una explotación. Como el peso final de sacrificio se mantienen en 13-15 @, aunque actualmente la tendencia es a sacrificar a pesos superiores (175 Kg.), lo que varía es el peso de entrada en montanera que se eleva hasta las 10-11 @ o superiores.

López-Bote (1999) estableció que para considera que un animal ha sido cebado en montanera la reposición en dicho sistema no debería ser inferior a los 30 Kg, mientras que Espárrago y cols. (1999a) consideran como límite inferior las 4 @ y con una duración superior a los 60 días.

La escasez de recursos disponibles, la limitación en el número de animales junto con la marcada estacionalidad de la explotación en montanera y el incremento de la demanda de productos del cerdo Ibérico por parte de los consumidores, ha determinado la aparición de sistemas de explotación durante la fase de cebo complementarios o diferentes al tradicional en montanera. En este sentido nos podemos encontrar con un sistema de explotación mixto, conocido como “recebo”, en el que el primer mes de cebo se realiza mediante aprovechamiento de los recursos naturales en montanera, mientras que el último mes anterior al sacrificio el cebo se realiza con piensos comerciales. Una tercera opción es la realización del cebo completo en intensivo con piensos comerciales, alimentación conocida como “de pienso” o de “cebo” Por último existe una denominación de “cerdo de campo” establecido por la Denominación de Origen Dehesa de Extremadura, que hace referencia a animales explotados en extensivo alimentándose de hierba y piensos autorizados (Denominación de Origen Dehesa de Extremadura, 1999). El empleo de uno u otro sistema de explotación durante la fase de cebo tiene importantes repercusiones en la calidad de la materia prima y del producto final.

La utilización exclusiva de piensos durante la fase de cebo ha permitido incrementar los rendimientos productivos puesto que con estos piensos los animales alcanzan el peso de sacrificio (160-175 Kg.) en menos tiempo del que necesitarían en montanera. La Norma de Calidad (BOE, 2001) establece un mínimo de 10 meses de edad para el sacrificio de los animales del grupo de alimentación de cebo. Tradicionalmente, los cereales (maíz, cebada, trigo) eran la base de este tipo de piensos, siendo similares a los empleados en el cebo de cerdos blancos, presentando un bajo contenido en grasa (alrededor de un 2-3-%). De esta forma el aporte energético a los animales se basaba en hidratos de carbono favoreciendo la síntesis endógena de grasa (Ruiz y López Bote., 2002a). Posteriormente, la composición de estos piensos se fue modificando sustancialmente con la incorporación de fuentes ricas en ácido linoleico (C18:2 n-6). Teniendo en cuenta que el punto de fusión de la grasa era uno de los métodos empleados para la diferenciación entre cerdos de pienso y de montanera, la inclusión de ácido linoleico (C18:2 n-6) tenía como principal objetivo incrementar la fluidez de la grasa, logrando similares puntos de fusión a los obtenidos por la grasa de cerdos explotados en montanera. No obstante, el empleo de este tipo de piensos presentaba

una serie de desventajas, como son el incremento de los fenómenos de oxidación lipídica, la necesidad de alargar los tiempos de maduración de los productos derivados, principalmente jamones, con la consecuente disminución de la calidad sensorial del producto final (López Bote., 2001a). Desde hace un tiempo, es habitual la incorporación de fuentes ricas en ácido oleico (C18:1 n-9) (tocino, oleínas, semillas de girasol, cacahuetes, aceite de colza etc.) a los piensos, con el objetivo de conseguir un perfil de ácidos grasos en la grasa de los animales similar al conseguido en montanera como consecuencia del consumo de bellotas.

No obstante, a pesar de la tendencia a la utilización de piensos “mejorados” durante la fase de cebo de los animales buscando un incremento de la rentabilidad de las producciones, existe un interés cada vez más creciente por los sistemas de producción en extensivo como la montanera debido a que es un sistema de explotación basado en el aprovechamiento de los recursos naturales, sostenible con el medio ambiente y respetuoso con el bienestar animal.

Todos los aspectos relacionados con el característico y peculiar sistema de producción del cerdo Ibérico que esta íntimamente ligado, como veremos a continuación, a la alta calidad sensorial presentada por sus productos derivados, están propiciando un creciente interés por el cerdo Ibérico.

II. Marco actual de regulación de la explotación del cerdo Ibérico y de la producción de jamones, paletas y lomos: Norma de Calidad.

Indudablemente, los tres pilares fundamentales de la calidad de los productos del cerdo Ibérico son la raza (genética), la alimentación y el proceso de elaboración, de ahí que haya surgido la necesidad de establecer unas bases legales que regulen la producción y comercialización de los productos derivados el cerdo Ibérico teniendo en cuenta estos factores.

Con la aplicación de la Norma de Calidad del jamón, paleta y lomo de cerdo Ibérico, se establecen unos requisitos de control que hasta ahora únicamente eran parcialmente exigidos por las Denominaciones de Origen. Así, se ha incorporado la participación de entidades de certificación privadas, que son las encargadas de velar por la utilización correcta de los términos Ibérico, bellota, recebo y cebo que emplean los industriales en el etiquetado de los productos elaborados, poniendo fin al uso indiscriminado y en muchas ocasiones fraudulento de estos términos. En base a esta Norma de Calidad, a partir del 15 de abril de 2004, todos los jamones, paletas o lomos deben certificarse por cualquiera de

las entidades Certificadoras reconocidas por la Administración. Además, los cerdos deberán igualmente ser calificados en cuanto a factor racial, edad y alimentación recibida.

De lo expuesto en la Norma de Calidad para el jamón Ibérico, paleta Ibérica y caña de lomo Ibérico publicada el 15 de octubre de 2001 por el Ministerio de Agricultura se desprende que la aplicación de esta normativa reguladora tiene dos objetivos principales. Por una parte, asegurar la pervivencia y el mantenimiento de la raza Ibérica al considerarse un “verdadero patrimonio genético y fuente de biodiversidad”. En segundo lugar, la necesidad de la Norma de Calidad se justifica por “la correcta y leal competencia en el mercado y por la defensa de los derechos de los consumidores”. En este sentido la elaboración de los productos nobles del cerdo Ibérico (jamones, paletas y lomos) requiere de una materia prima especial, consecuencia de un sistema de alimentación y manejo que supone un coste mayor en comparación con los sistemas intensivos de producción porcina. A este aspecto hay que añadir que las características diferentes y peculiares del proceso de elaboración de los productos del cerdo Ibérico, con periodos más largos de procesado tienen repercusión en el precio que estos productos presentan en el mercado.

Los aspectos más destacables descritos en esta Norma de calidad se describen a continuación:

- Una de las características que inicialmente llama más la atención, es el hecho de la inclusión en esta Norma de Calidad no sólo de jamones y paletas Ibéricas sino también de caña de lomo. En este sentido, hasta el momento las Denominaciones de Origen del sector del Ibérico (Guijuelo, Dehesa de Extremadura, Jamón de Huelva y Jamón de los Pedroches), únicamente incluían jamones y paletas.
- En relación a las razas autorizadas amparadas bajo esta norma de calidad para la elaboración de productos, únicamente se permite emplear cerdos procedentes del cruce de reproductora Ibérica pura con macho reproductor de las razas Ibérica, Duroc o Duroc-Jersey, puro o resultante del cruce entre ellas.

- En relación a la alimentación a la que ha sido sometida el animal antes del sacrificio, las designaciones de calidad son:

<p><u>De bellota o terminado en montanera</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Edad mínima de entrada en montanera: 10 meses - Peso medio de entrada en montanera de cada partida: entre 80.5 y 115 kg (de 7 a 10 @) - Reposición en montanera: mínimo 46 kilos (4@)
<p><u>De recebo o terminado en recebo</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Edad mínima de entrada en montanera: 10 meses - Reposición en montanera: mínimo 28.75 kilos (2.5 @) - Cebo completado con piensos (cereales y leguminosas principalmente) hasta el sacrificio
<p><u>De cebo</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Cebo hasta el sacrificio con piensos (cereales y leguminosas principalmente). -Edad mínima de sacrificio: 10 meses.

- La identificación de los cerdos tendrá lugar:
 - En función del factor racial antes del destete.
 - En función del factor de calidad y alimentación mediante controles de campo y analíticos realizados por empresas certificadoras autorizadas
- Denominación y definiciones de cada producto: donde se indica las partes anatómica que constituyen cada producto así como la duración y características de su procesado (ver anexo Norma de Calidad).
- Elaboración de los productos: se establecen las etapas y tiempos mínimos de procesado, que en el caso de los jamones y paleta Ibéricas son de 400 y 300 días respectivamente y en el caso de los lomos de 80 días. No obstante desde algunas asociaciones como ASICI (Asociación Interprofesional del Cerdo Ibérico) se está proponiendo ampliaciones para los tiempos de procesado de los jamones y paletas y una reducción para el caso de los lomos.
- Designaciones de calidad: que deben figurar en el etiquetado en el siguiente orden.
 - Primero: producto → jamón, paleta o caña de lomo
 - Segundo: designación racial: Ibérico

- Tercero: designación de alimentación → bellota o terminado en montanera, recebo o terminado en recebo y cebo).

Para cumplir los requisitos establecidos en función de la designación racial, los animales que sean considerados reproductores Ibéricos puros deben estar inscritos en el Libro Genealógico de la Raza porcina Ibérica o ser certificados como tales por una entidad de control y certificación reconocida, en base los parámetros establecidos por el M.A.P.A. en colaboración con AECERIBER (Asociación Española de Criadores de ganado Porcino Selecto Ibérico Puro y Tronco Ibérico) (BOE, 2001).

El método oficial que permite establecer las correspondientes designaciones de calidad en el producto final en función de la alimentación recibida por los animales durante la fase de cebo, se basa en la determinación analítica de la composición ácidos grasos del tejido adiposo subcutáneo de canales de cerdos Ibéricos mediante cromatografía de gases (BOE, 2004). La toma de muestra se debe realizar sobre la canal del animal a nivel de la rabadilla (aproximadamente a 10 cm. del rabo siguiendo la línea del espinazo) con unas medidas establecidas (3 x 3 cm. o un trozo no superior a 5 cm.) y contener la piel, la grasa existente desde la piel al magro y algo de magro. La clasificación se realiza en base a los porcentajes obtenidos de los cuatro ácidos grasos mayoritarios (ácido palmítico, C16:0; ácido esteárico, C18:0; ácido oleico, C18:1 y ácido linoleico, C18:2) (BOE, 2004). Para cada campaña, la Asociación Interprofesional del cerdo Ibérico (ASICI) propone al M.A.P.A unos valores (intervalos) analíticos para cada uno de estos cuatro ácidos grasos, en función de los cuales los cerdos se pueden clasificar en tres grupos diferentes de alimentación: bellota, recebo o cebo. Así por ejemplo, para la campaña 2004-2005, los valores analíticos para los cuatro ácidos grasos de referencia que debían presentar los cerdos clasificados como de bellota fueron: C16:0 menor o igual a 21.7%, C18:0 menor o igual a 10.1%, C18:1 mayor o igual a 53.5% (valor máximo admitido en este grupo 58%) y C18:2 menor o igual a 10.0%. (Convenio MAPA-ASICI, RD 1083/2001).

No obstante, desde la publicación de la Norma de Calidad para los productos del cerdo Ibérico, muchos sectores implicados tanto en la explotación del cerdo Ibérico, como en la elaboración o comercialización de sus productos derivados han puesto de manifiesto las numerosas dificultades en relación al cumplimiento y la puesta en práctica de muchas de las medidas establecidas en dicha Norma de calidad. En el último Congreso Mundial del Jamón (Teruel, mayo 2005), varios representantes de los diferentes sectores implicados (E. Dieguez, presidenta de AECERIBER; De la Gándara Merino, Dto. Técnico de la C.R.D.O. Guijuelo y Revilla Saavedra, presidente del grupo consorcio de Jabugo) manifestaron su

desacuerdo con determinados aspectos relacionados con la Norma de Calidad. Entre los aspectos que despiertan mayor preocupación y controversia destacan la falta de entidades certificadoras, la denominación de Ibérico a cerdos con un 50% de sangre Duroc, la falta de vinculación de la denominación de cerdo Ibérico con las dehesas arboladas y la explotación en extensivo. Por último, otro de los aspectos que despierta mayor preocupación se refiere a la ineficacia de la determinación analítica de la composición en ácidos grasos del tejido subcutáneo como método oficial para la clasificación de la materia prima en función de la alimentación recibida durante el cebo. Por tanto los aspectos relacionados con la genética y la alimentación son los que actualmente despiertan un mayor interés en el sector porcino Ibérico.

La utilización de la raza Duroc como raza mejorante en el cruce con Ibérico permite que los cerdos cruzados presenten una serie de ventajas productivas y reproductivas como son un mayor rendimiento en piezas nobles y un incremento del número de lechones por cerda en comparación con el cerdo Ibérico en pureza (Espárrago, 1998; Benito y col., 2001). El empleo generalizado de este tipo de cruces derivaron a una situación en la que gran parte de la población de hembras reproductoras consideradas Ibéricas eran, en realidad, cruzadas con Duroc (Espárrago, 1999b), lo que significa que una gran parte de los cerdos sacrificados como Ibéricos tenía una pureza racial como máximo del 75%. Para evitar esta situación la Norma de Calidad establece que en todos los casos ya sea para la producción de cerdo Ibéricos puros o cruzados con Duroc las hembras reproductoras deben ser de raza Ibérica en pureza.

En relación al empleo del análisis de la composición en ácidos grasos del tejido subcutáneo como método oficial establecido por la Norma de Calidad, campaña a campaña se viene comprobando como aumentan tanto el número de falsos positivos (cerdos clasificados como de bellota cuando su cebo se ha realizado con piensos) como de falsos negativos (cerdos criados en montanera que no presentan el perfil de ácidos grasos exigido para incluirse dentro del grupo de alimentación de bellota). Muchos de los cerdos clasificados en el grupo de alimentación de bellota son en realidad animales explotados en intensivo con piensos enriquecidos en ácido oleico (C18:1 n-9), de forma que no es posible diferenciar el perfil de ácidos grasos de la grasa subcutánea de estos animales del de los animales cebados en régimen de montanera.

Por último, realizar unas indicaciones en relación a posibles modificaciones que se están planteando para la Norma de Calidad desde diversas asociaciones profesionales como ASICI (comunicación personal Jesús Ventanas, Asociación Interprofesional del Cerdo

Ibérico). En cuanto a la denominación racial, se distinguiría entre Ibérico puro e Ibérico, en este último se incluirán los cruzados con Duroc de madre Ibérica. En la categoría de cebo se podrían incluir los cerdos denominados de campo, es decir criados en extensivo pero alimentados con pienso durante el cebo completo. En la categoría de recebo el suministro simultáneo de pienso durante la montanera debe realizarse de forma racionada. Se establecería por ejemplo un estancia mínima en montanera diferente para los cerdos Ibéricos puros y para los denominados Ibéricos, que será mayor para éstos últimos (75 frente a 60 días para los Ibéricos puros). Igualmente estos tiempos serían diferentes en función de si son animales de montanera o de recebo. Un aspecto también importante es el que hace referencia a los tiempos mínimos de curación de los jamones y paletas, que serán diferentes en función de los pesos y de la categoría (bellota, recebo o cebo). Por último, se pretende dar una menor importancia a la analítica de la composición en ácidos grasos del tejido adiposo, de forma que los límites de cada uno de los cuatro ácidos grasos se fijarían atendiendo a limitaciones en el producto final, pero buscando no excluir a ningún animal de su categoría. Es decir, una vez obtenida la clasificación de montanera, se consideraría que la analítica pasaría a un plano secundario sólo para establecer una diferenciación con los cerdos cebados de pienso.

III. Importancia la grasa intramuscular en la calidad de los productos derivados del cerdo Ibérico

De entre las características implicadas en la calidad de la carne y los productos cárnicos del cerdo Ibérico, no cabe duda que la cantidad y composición de la grasa es uno de los factores determinantes (Ruiz y cols., 2000; Ventanas y cols., 2005). En concreto la grasa intramuscular juega un papel decisivo tanto en aspectos relacionados con la tecnología del procesado como en las características sensoriales y nutricionales de los productos derivados (Ventanas., 2001; Ruiz y López Bote, 2002a; Ventanas y cols., 2005).

Desde el punto de vista de la calidad tecnológica, el contenido en grasa intramuscular es de enorme importancia puesto que determina el grado de penetración al interior del mismo de la sal, aditivos y/o especias empleadas durante el procesado así como el nivel de desecación del producto. De hecho, aquellas piezas que presentan un mayor contenido en grasa intramuscular necesitan un periodo de maduración más prolongado para conseguir una pérdida de humedad adecuada y una óptima penetración de la sal al interior del producto que garantice la estabilidad microbiológica del mismo. Este efecto se produce como consecuencia del menor coeficiente de difusividad tanto de la sal como del agua en la grasa en relación al magro (Palumbo y cols., 1977). Además del contenido graso, la

consistencia de la grasa es esencial para conseguir una adecuada pérdida de humedad de las piezas durante el procesado (Lopez Bote y cols., 1998b). En este sentido, la presencia de niveles de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) (con menores puntos de fusión), en concreto de ácido linoleico (C18:2 n-6), por encima del 12-15% se consideran inapropiados para la elaboración de jamones, puesto que alargan el procesado como consecuencia de la dificultad de la migración del agua a través de las piezas, como consecuencia del estado físico de la grasa (mayor fluidez) (Girard y cols., 1989; Ruiz y López-Bote, 2002a). Este es un hecho bien conocido en el sector del cerdo Ibérico, donde se han descrito la necesidad de mantener las piezas en el secadero durante 12-18 meses adicionales, con el consiguiente encarecimiento del proceso. Además, en el caso de productos cárnicos crudos madurados, una baja consistencia de la grasa produce problemas de manipulación de la carne (picado, perfilado, embutido, etc.), oxidación excesiva con aparición de olores y sabores anómalos y coloraciones amarillentas e incluso anaranjadas.

La grasa intramuscular se compone principalmente de lípidos neutros y lípidos polares. Los primeros se subdividen en mono-, di- y triglicéridos (los mayoritarios), ácidos grasos libres (AGL) y los compuestos de la fracción insaponificable (que incluye colesterol, tocoferoles, carotenos e hidrocarburos). Por su parte, entre los lípidos polares destacan los fosfolípidos, que se disponen en bicapas que conforman estructuralmente las membranas semipermeables celulares, donde igualmente se encuentra los tocoferoles, mientras que los triglicéridos se localizan en el interior de los adipositos como gotas lipídicas, formando parte por tanto de las vetas de grasa del músculo. La grasa acumulada entre las fibras musculares constituye lo que se conoce como la grasa de infiltración o marmoreado (German, 1990). El contenido y la composición de los lípidos intramusculares están relacionados con atributos sensoriales como la jugosidad (Wood y cols., 1986), el aroma y el flavor (Mottram y Edwards, 1983; Cameron y cols., 1990; Cameron y Enser, 1991), que son precisamente los de mayor importancia en los productos del cerdo Ibérico (Ruiz y cols., 2000; Ruiz y cols., 2002b).

Desde el punto de vista de las características sensoriales, el aspecto de la carne y productos cárnicos en general, y de los derivados del cerdo Ibérico en particular, está en parte condicionado por el contenido, la disposición y el tamaño de las vetas que conforman la grasa intramuscular o de infiltración. Uno de los atributos sensoriales relacionados con el aspecto que destaca en los productos derivados del cerdo Ibérico es el brillo de la superficie de corte, consecuencia de la elevada proporción de grasa intramuscular y de la fluidez de la misma. Este brillo se debe a la fluidificación de la grasa a temperatura

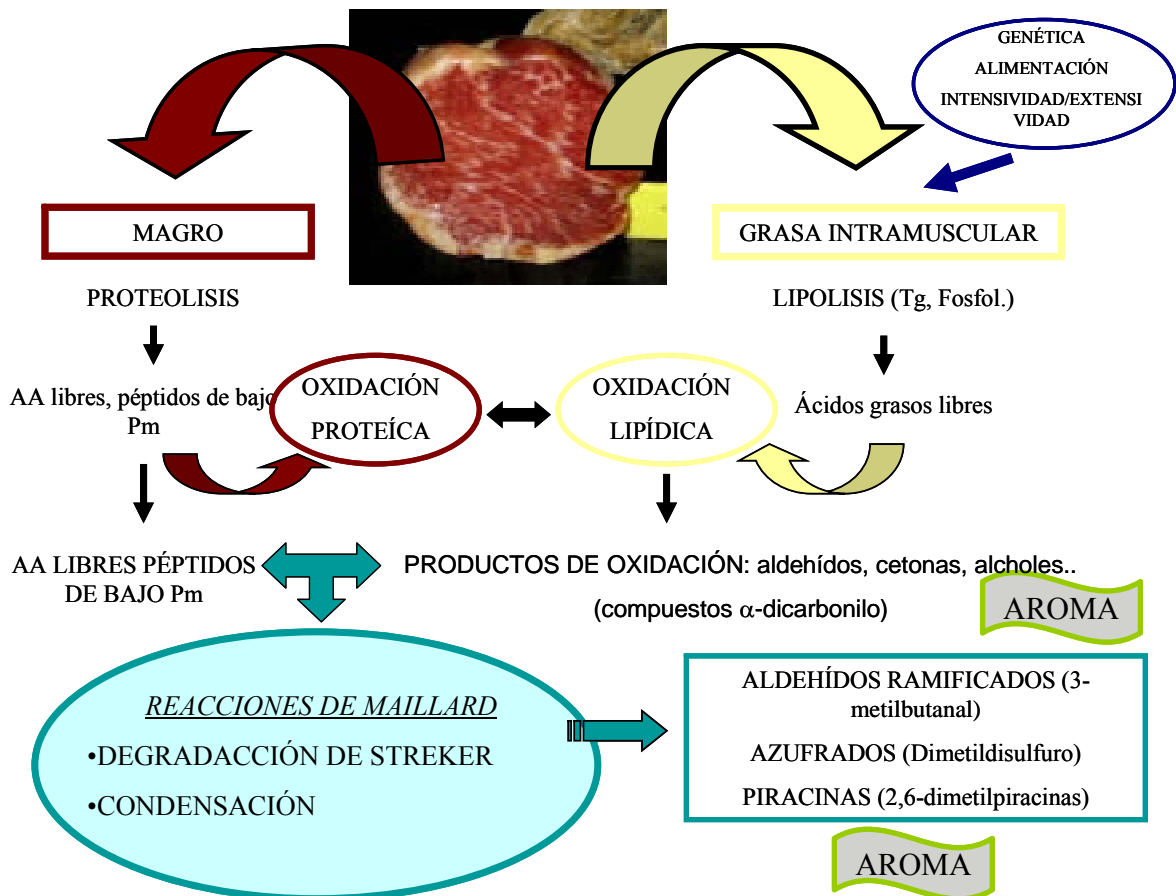
ambiente como consecuencia de su bajo punto de fusión, lo que favorece la aparición de una fina película que se extiende sobre la superficie de corte del producto. Cuando los ácidos grasos que componen la grasa se presentan mayoritariamente en estado líquido, su consistencia es baja y su apariencia aceitosa, aportando un brillo característico (Ruiz y López Bote, 2002a). El estado físico de la grasa presenta un relación directa con el punto de fusión de los triglicéridos (López-Bote y cols., 1997; Davenel y cols., 1999), que a su vez está determinado por el número de insaturaciones o dobles enlaces de los ácidos grasos (Davenel y col., 1999). En el caso concreto del cerdo Ibérico, el ácido oleico es el que presenta una mayor influencia sobre la consistencia de la grasa (Flores y cols., 1988) y por tanto en atributos como el brillo, debido a que es el ácido graso mayoritario y el que presenta mayores porcentajes de variación. Otro de los atributos sensoriales más característicos de los productos del cerdo Ibérico es el elevado grado de vetado o marmorización, considerado como un indicador de calidad de los mismos, y que estaría directamente relacionado con el mayor contenido en GIM característico de esta raza (Ruiz y cols., 2000).

De los atributos sensoriales relacionados con la textura, la jugosidad es el atributo que influye en mayor medida sobre la aceptabilidad de los productos del cerdo Ibérico por los consumidores (Ruiz y cols., 2002b). Dos parámetros físico-químicos parecen determinar la jugosidad, el contenido acuoso y el contenido en grasa intramuscular del alimento. En los productos curados, es este último es el que presenta una mayor importancia, puesto que durante el procesado existe una considerable deshidratación de las piezas, de forma que al final del mismo el contenido acuoso se ha reducido marcadamente. La grasa juega un papel fundamental sobre en la jugosidad, puesto que durante la masticación estimula la secreción de saliva de forma directa o bien como consecuencia de la liberación durante la masticación de gran cantidad de sustancias aromáticas presentes en la grasa. Por otro lado, cuando el contenido en grasa intramuscular es elevado, existe una mayor persistencia de la sensación de jugosidad en la cavidad oral tras la masticación, al contribuir a la lubricación del alimento (Dikeman, 1987).

Durante el procesado tienen lugar reacciones bioquímicas (lipólisis) y químicas (oxidación lipídica, reacciones de Maillard y degradación de Strecker de ciertos aminoácidos), donde los lípidos juegan un papel fundamental como precursores de un gran número de compuestos volátiles de bajo peso molecular con importantes repercusiones sobre el flavor del producto final (Ruiz y cols., 2002c). En este sentido, gran parte de los compuestos descritos como olor-activos en jamón Ibérico proceden de las reacciones de oxidación de

los ácidos grasos insaturados (Carrapiso y cols., 2002). En las reacciones de oxidación lipídica se ven preferentemente implicados los fosfolípidos de membrana al presentar una elevada proporción de ácidos grasos insaturados (Igene y Pearson., 1979; Cava y cols., 1999; Ventanas y cols., 2006). También hay que destacar, que otros compuestos olor-activos destacados del jamón Ibérico, como el 3-metilbutanal, provienen de la degradación de Strecker de aminoácidos del magro en presencia de compuestos dicarbonilo (muchos de ellos derivados de la oxidación lipídica). Por tanto, la grasa intramuscular en estrecho contacto con el magro juega un papel determinante en este tipo de reacciones (figura 2).

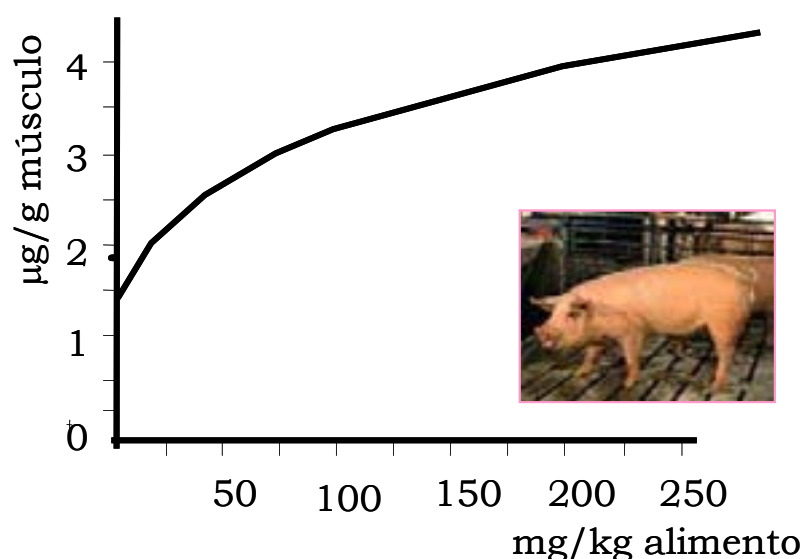
Figura 2.- Papel del magro y la grasa en las reacciones implicadas en la generación del aroma.



La presencia del tocoferol en las membranas celulares frena el desarrollo de las reacciones de oxidación de los lípidos polares, así como de otros componentes de la fracción insaponificable como el colesterol, que también se localizan en las membranas celulares. La vitamina E es una vitamina liposoluble que tiene como función fundamental la de

actuar como antioxidante en los tejidos biológicos. Se incorpora en la dieta con las grasas para ejercer su función en el ser vivo. Para incrementar la presencia de esta vitamina en los productos cárnicos existen dos posibilidades, o bien suplementar la dieta de los animales con α -tocoferol, o bien añadirlo directamente al producto durante su elaboración. En el primer caso, la vitamina E administrada a concentraciones elevadas (100-200 mg/kg de pienso) aumenta de forma marcada la concentración en tejidos y estructuras subcelulares, ejerciendo un potente efecto antioxidante (figura 3) (Buckley y cols., 1995; López Bote y Menoyo, 2001b).

Figura 3.- Relación entre el contenido en α -tocoferol del pienso y la presente en el músculo del gando porcino (López-Bote y Menoyo, 2001b).



La principal ventaja de esta estrategia frente a la adición directa en el producto es que la efectividad de la vitamina E es muy superior por distribuirse uniformemente en todos los tejidos y en todas y cada una de las células del organismo, e incluso en las estructuras subcelulares (membranas de mitocondrias, microsomas, etc.). Por el contrario, cuando se añaden directamente al producto, únicamente se distribuyen en los triglicéridos. La incorporación de sustancias con efecto antioxidante como el α -tocoferol a través de la alimentación resulta de enorme interés en las piezas enteras de productos cárnicos crudos madurados, donde la incorporación de antioxidantes naturales en la alimentación puede ser el único mecanismo de actuación para controlar la oxidación de productos cárnicos, ya que la inclusión de aditivos tras el sacrificio puede ser del todo inefectiva, al no profundizar suficientemente en el interior de las piezas (López-Bote, 1998b; Ruiz y López Bote

2002a). La presencia de este tipo de sustancias con efecto antioxidante tiene una repercusión directa sobre la calidad del producto final, al proteger tanto a los lípidos (precursores de gran cantidad de compuestos volátiles con importancia aromática) como al pigmento mioglobina de los procesos oxidativos (Nawar, 1996). En el caso concreto del cerdo Ibérico, se ha observado como la alimentación en montanera incrementa los niveles de α y de γ -tocoferol, consecuencia de la destacada presencia de estos compuestos en la hierba y en las bellotas (Rey y cols., 1998, Daza y cols., 2005). Para los productos cárnicos curados, la presencia de estos compuestos ejerce un efecto modulador de las reacciones de oxidación lipídica durante el procesado y en consecuencia sobre las características sensoriales de los mismos, principalmente el flavor. En este sentido, junto con la jugosidad, el flavor es uno de los atributos que determinan en mayor medida la aceptabilidad del jamón Ibérico por los consumidores (Ruiz y cols., 2002b).

En los países occidentales, las repercusiones de la dieta sobre la salud y el bienestar de los consumidores han condicionado su actitud hacia determinados alimentos. En este sentido, tanto la carne como los productos cárnicos, son importantes constituyentes de la dieta en los países occidentales. El grado en que estos alimentos son percibidos como “saludables” determina su “imagen” así como la intención de compra por los consumidores (Jiménez Colmenero, 2000). La asociación de determinados constituyentes de la carne, como el contenido graso y los niveles de colesterol, con el riesgo de padecer determinadas enfermedades ha repercutido en el consumo de estos productos. De hecho, la carne y los productos cárnicos se perciben por los consumidores como las principales fuente de grasa de la dieta y en especial de grasa saturadas (Wood y cols., 2003). De acuerdo con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2003) y más recientemente por otras instituciones internacionales (U. S. Department of Health and Human Services (HHS) and Department of Agriculture (USDA), 2005), la grasa no debe sobrepasar entre el 15 y el 30% de las calorías de la dieta y las grasas saturadas no deben suponer más del 10% del aporte calórico total. En consecuencia, las actuales tendencias de consumo, se dirigen hacia productos cárnicos con bajo contenido graso (*low-fat*), y considerando las recomendaciones establecidas por las organizaciones internacionales, el consumo de carne y productos derivados se ha moderado. Se han realizado numerosos esfuerzos en la reducción del contenido graso de las canales con el objetivo de cubrir las demandas de los consumidores hacia productos cárnicos con bajo contenido graso. En este sentido, a pesar de que los elevados niveles de GIM de los productos cárnicos derivados del cerdo Ibérico no se adaptan a las actuales tendencias de consumo, estos niveles de GIM

son esenciales para el correcto procesado de las piezas así como para conseguir una adecuada y elevada calidad sensorial en el producto final. Gracias a las especiales características sensoriales, en parte como consecuencia de los niveles de GIM, los productos del cerdo Ibérico son considerados por los consumidores como productos de alta calidad “delicatessen”. Además el contenido en GIM (12-13% para el jamón Ibérico) (Petrón y cols., 2003) no es excesivamente elevado en comparación con el de otros productos cárnicos como salchichas (16-20%) (Piironen y cols., 2002), hamburguesas (12-17%) (Fernández, 2000) y otros productos cárnicos (tabla 1).

Tabla 1. Contenido graso y en colesterol de algunos productos cárnicos.

Producto cárnico	Grasa (%)	Colesterol (mg /100g)	Referencias
Jamón curado Ibérico	12.89-13.21	32.6-34.03 ¹	Petrón y cols.(2003)
Salami de Milan	29.5	94.8-110.5	Zanardi y cols.(200)
Paté de hígado de cerdo	24.6-28	77-102	Echarte y cols. (2004)
Jamón Curado de Parma	7.0	61.6-76.4	Zanardi y cols.(200)
Jamón curado Serrano	12.9		Vestergaard y Parolari (1999)
Jamón curado (pavo)	3.7	38	Baggio y cols. (2005)

La composición en ácidos grasos juega un papel importante en la relación dieta-salud, puesto que cada ácido graso afecta de diferente manera a las lipoproteínas-colesterol plasmáticas y tienen un efecto diferente en los procesos trombogénicos y aterogénicos (tabla 2). La presencia de altos niveles de AGS (en la carne, destacan el ácido mirístico C14:0 y el palmítico C16:0) en la dieta parece que incrementa los niveles de colesterol plasmáticos totales y los niveles de las lipoproteínas-colesterol plasmáticas de baja densidad (LDL). La presencia de AGPI y AGMI en la dieta reducen los niveles de LDL-colesterol y por tanto disminuyen el colesterol plasmático. No obstante, los AGPI también disminuyen los niveles de lipoproteínas-colesterol plasmáticas de alta densidad (HDL) (Mattson y Grundy, 1985) que presentan un efecto positivo en la prevención de enfermedades cardiovasculares. La presencia de altos niveles de AGMI en la dieta se ha asociado a un menor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, aunque esta relación parece ser menos estrecha que la existente con los AGPI (Hu y col., 1997). En este

sentido las organizaciones internacionales (OMS, 2003; Departamento de salud del Reino Unido, 1994) han establecido una serie de cocientes recomendados (AGPI/AGS, balance entre AGPI n-6/n-3) considerando los niveles que estos ácidos grasos debe presentar en una dieta equilibrada. La carne y productos derivados del cerdo Ibérico empiezan a ser percibidos por los consumidores como “saludables”, consecuencia del alto contenido en AGMI, principalmente ácido oleico, derivados de la ingesta de bellotas durante la etapa de cebo en montanera. De manera tradicional, en los países Mediterráneos, el aceite de oliva ha constituido una de las principales fuentes de AGMI de la dieta, con más de un 78% de ácido oleico. En este sentido, la inclusión en la dieta de carne y productos cárnicos derivados del cerdo Ibérico podría considerarse como una buena fuente de AGMI en comparación con otras carnes de consumo habitual.

Tabla 2. Efecto aterogénico y trombogénico de los diferentes ácidos grasos (Muñoz Luna y cols., 1996).

ÁCIDOS GRASOS	EFFECTO ATEROGÉNICO	EFFECTO TROMBOGÉNICO
AGS		
C12:0 ácido láurico	↑	↑
C14:0 ácido mirístico	↑	↑
C16:0 ácido palmítico	↑	↑
C18:0 ácido esteárico	↓	↑
AGMI		
C16:1 n-7 ácido palmitoleico	=	=
C:18:1 n-9 ácido oleico	↓	↓
AGPI		
C18:2 n-3 ácido linoleico	↑	↓
C18:3 n-3 ácido linolénico	=	↓
C20:4 n-6 ácido araquidónico	↓	↑
C20:5 n-3 ácido eicosapentaenoico	↓	↓
C20:6 n-3 ácido docosahexaenoico	↓	↓

La relación entre el contenido en colesterol de la dieta y los niveles de colesterol plasmático no está del todo establecida, aunque parece que únicamente aquellas personas con cierta predisposición genética a presentar hipercolesterolemia podrían beneficiarse de reducciones del colesterol de la dieta (Simopoulos, 1997). Niveles altos de colesterol vinculados a las LDL en sangre predisponen a padecer enfermedades cardiovasculares,

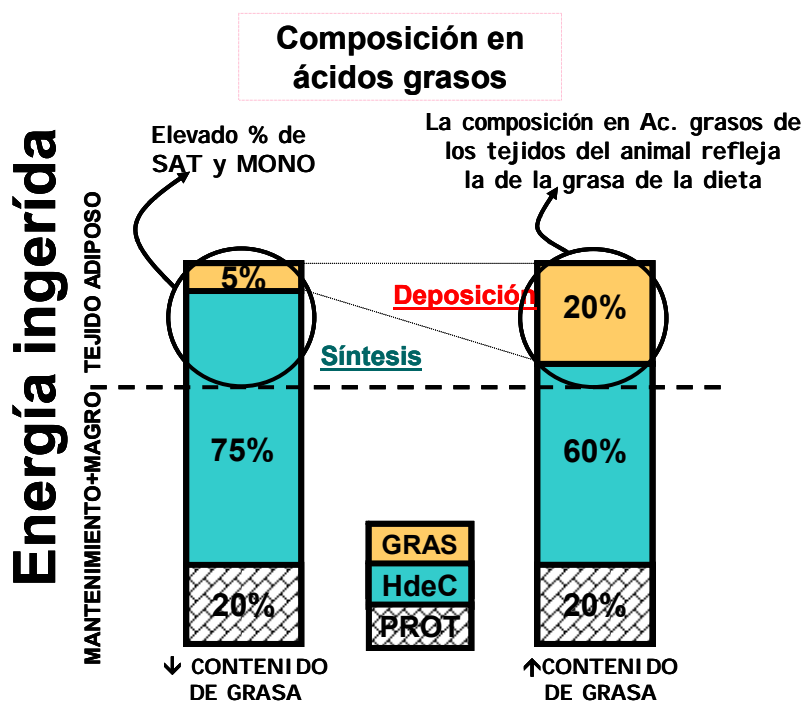
puesto que parecen favorecer la formación de placas ateromatosas (Ross, 1986; Betteredge, 1987). No obstante, lo que sí se ha demostrado es que un exceso de colesterol en la dieta contribuye a incrementar los efectos de los ácidos grasos saturados sobre las lipoproteínas-colesterol plasmáticas (Kromhout y col., 1995). Las actuales recomendaciones nutricionales establecen un consumo inferior a 300 mg colesterol /día (U. S. Department of Health and Human Services (HHS) and Department of Agriculture (USDA), 2005). Algunos estudios recientes realizados en jamón Ibérico han descrito niveles de colesterol entre 32.6 y 34.03 mg/100 g de músculo (Petrón y cols., 2003).

IV. Factores que influyen sobre las características de la GIM.

De los factores que determinan el contenido y composición de la GIM del cerdo Ibérico, aquellos relacionados con la genética de los animales y la alimentación, principalmente la recibida durante la fase de cebo, son los que presentan una mayor repercusión.

La grasa depositada en el cerdo puede ser de origen endógeno (sintetizada a partir de los hidratos de carbono de la dieta) o bien de origen exógeno (asimilando los ácidos grasos de la grasa de los alimentos consumidos) (Ruiz y López Bote., 2002a). El balance entre la síntesis endógena y la deposición exógena depende de las características de la dieta recibida por los animales en relación al exceso de energía disponible con respecto a las necesidades metabólicas del animal (figura 4).

Figura 4. Relación entre la composición de la dieta del ganado porcino y la composición en ácidos grasos de los lípidos titulares (tomado de Ruiz y Lopez-Bote, 2002a).



Cuando la dieta recibida por los animales es rica en hidratos de carbono y baja en grasa, el exceso energético procedente de los hidratos de carbono se destina a la síntesis de grasa (endógena), principalmente de AGS y AGMI. Por tanto las dietas ricas en hidratos de carbono y pobres en grasa, como es el caso de muchos de los piensos comerciales empleados en el cebo intensivo del cerdo Ibérico, tienden a provocar un incremento de los ácidos grasos saturados (principalmente de ácido palmítico C16:0 y esteárico C18:0) de los distintos reservorios grasos.

Por otra parte, cuando la proporción de grasa en la dieta es elevada (por ejemplo durante el cebo en montanera, ya que la bellota presenta altos niveles de grasa), la composición en ácidos grasos de los lípidos titulares refleja en mayor medida la de la grasa de la dieta, debido a la acumulación directa de una gran cantidad de ácidos grasos, sin apenas modificaciones (puesto que el cerdo es un animal de estómago monocavitario). De esta forma los animales cebados en montanera, que consumen principalmente bellotas, presentarán unos niveles elevados de ácido oleico C18:1 n-9 y bajos de linoleico C18:2 n-6, reflejo de la composición en ácidos grasos de las bellotas.

En relación al contenido graso, se ha descrito que bajos niveles de proteínas en la dieta producen un incremento en el depósito de lípidos en el músculo (Ruiz y López-Bote, 2002a), lo que podría explicar el mayor contenido graso descrito en animales de montanera, dado que tanto la hierba como la bellota presentan bajos niveles de proteína (Ruiz y cols., 1998; Tejeda y cols., 2002).

Desde el punto de vista de la genética, los animales de raza Ibérica se caracterizan por presentar un gran potencial adipogénico, lo que les conduce a acumular gran cantidad de grasa en sus tejidos, confiriendo a la carne un alto grado de veteado. Además, hay que añadir que este parámetro presenta un elevado grado de heredabilidad en el especie porcina ($h^2 = 0.29-0.86$) (Sellier, 1998). En este sentido, una de las razones de utilizar la raza Duroc en los cruces con Ibérico, es el hecho de que en comparación con otras razas seleccionadas, se caracteriza por presentar un mayor contenido en grasa intramuscular (Latorre y cols., 2003).

V. Lomo curado

Según la Norma de calidad (BOE, 2001), se entiende por caña de lomo Ibérico “el producto elaborado con la masa común lumbosacra que se prolonga en el músculo longísimo del dorso, ilio costal, y semiespinal del tórax de cerdos adultos de las razas autorizadas, y prácticamente libre de grasa externa, aponeurosis y tendones, salado,

adobado (adicionado de sal, pimentón y otras especias, condimentos y aditivos autorizados) y embutido en tripas naturales o artificiales, el cual ha sufrido un adecuado proceso de maduración y desecación”. El proceso de elaboración contará con las siguientes fases: adobo, escurrido, curado y secado-maduración. El tiempo mínimo de maduración será de 80 días.

En líneas generales, una vez estabilizada la pieza, durante la fase de secado-maduración de las mismas, a diferencia del procesado de los jamones o paletas Ibéricas, las temperaturas de las cámaras no superan normalmente los 16-18°C y la humedad relativa no desciende por debajo del 70-75%.

Las principales especias empleadas en la elaboración de la caña del lomo son el pimentón (*Capsicum annum*), y el ajo (*Allium sativum*) con el fin de aportar sabor, color, olor y además parece que presentan cierta actividad antioxidante (Aguirrezábal y cols., 2000).

Las nuevas tendencias de consumo han llevado a algunos industriales a producir lomos curados sin la inclusión de adobo o con un contenido mínimo, con el objetivo de evitar el sabor y olor tan fuertes derivados de la presencia de estos ingredientes, resaltando de esta forma las características intrínsecas de la salazones derivadas del Ibérico.

Por otra parte, además de los formatos habituales de presentación en forma de pieza entera embuchada o como loncheados, están apareciendo en el mercado nuevos formatos como los denominados “lomitos”, que correspondería la parte más craneal del lomo.

VI. Referencias

- Aguirrezábal M. M., Mateo J., Domínguez M. C. y Zumalacárregui J. M. (2000). The effect of paprika, garlic and salt on rancidity in dry sausages. *Meat Science*, 54, 77-81.
- Benito J., Ferrera J. L., Lara E., Prieto L. y García Casco J. M. (2001). Caracteres productivos y de calidad en cerdos Ibéricos puros y cruzados con Duroc. Influencia de la montanera sobre su perfil de ácidos grasos. *Solo Cerdo Ibérico*, nº octubre 2001, 7-18.
- Betteredge J. (1987). Nutrition and platelet function in atherogenesis. *Proceedings Nutrition Society*, 46, 345-359.
- BOE. Boletín Oficial del Estado. (2001). Real Decreto 1083/2001, de 5 de Octubre, por el que se aprueba la norma de calidad para el jamón Ibérico, paleta ibérica y caña de lomo Ibérico elaborados en España. *B.O.E.*, 247, 15 de Octubre, 37830-37833.
- Buckley D. J., Morrissey P. A. y Gray J. I. (1995). Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *Journal of Animal Science*. 73: 3.122-3.130.
- Cameron, N.D. & Enser, M.B. (1991). Fatty acid composition of lipid in *Longissimus dorsi* muscle of Duroc and British Landrace pigs and its relationship with eating quality. *Meat Science*, 29, 295-307.

- Cameron, N.D., Warriss, P.D., Porter, S.J. y Enser, M. (1990). Comparison of Duroc and British Landrace pigs for meat and eating quality. *Meat Science*, 27, 227-247.
- Carrapiso A.I., Jurado A., Timón M. L. y García, C. (2002). Odor-Active Compounds of Iberian Hams with Different Aroma Characteristics *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6453-6458.
- Cava R., Ruiz J., López-Bote C., Martín L., García C., Ventanas J., y Antequera T. (1997). Influence of finishing diet on fatty acid profiles of intramuscular lipids, triglycerides and phospholipids in muscle of the Iberian pig. *Meat Science*, 45 (2), 263-270.
- Cava R., Ruiz J., Ventanas J., y 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.
- Cruz J. (2005). El sector Ibérico: análisis de la producción de carne frescas y elaboración de productos curados. *Eurocarne*, 141, 19-22.
- Davenel A., Riaublanc A., Marchal P y Gandemer G. (1999). Quality of pig adipose tissue: relationship between solid fat content and lipid composition. *Meat Science*, 51, 73-79.
- Daza A., Rey A. I., Ruiz J., y López-Bote, C. (2005). Effects of feeding in free-range conditions or in confinement with different dietary MUFA/PUFA ratios and α -tocopheryl acetate, on antioxidants accumulation and oxidative stability in Iberian pigs. *Meat Science*, 69, 151-163.
- Denominación de origen Dehesa de Extremadura. (1999). Características y controles de los cerdos calificados CAMPO en el denominación de origen Dehesa de Extremadura. *Sólo Cerdo Ibérico*, 3, 103-109.
- Departamento de salud, Reino Unido. (1994). Nutritional aspects of cardiovascular disease. *Report on Health and Social Subject* nº 46. London: Her Majesty's Stationery Office.
- Diéguez Garbayo E. (2000). La raza porcina Ibérica. *Sólo Cerdo Ibérico*, 5, 7-24.
- Dikeman M.E. (1987). Fat reduction in animals and the effects on palatability and consumer acceptance of meat products. *Proceedings of the Reciprocal Meat Conference*, 40, 93-105.
- Echarte M., Conchillo A., Ansorena D. y Astiasarán I. (2004). Evaluation of the nutritional aspects and cholesterol oxidation products of pork liver and fish pâtés. *Food Chemistry*, 86, 47-53.
- Espárrago F. (1998). Estudio comparativo de calidad, rendimiento y costes entre cerdos Ibéricos puros y cruzados engordados en régimen de montanera. *Sólo Cerdo Ibérico*, 1, 108-118.
- Espárrago F., Cabeza de Vaca F. y Cervini L. (1999a). Alimentación y sistema de explotación del cerdo Ibérico en cebo y calidad de las producciones. *Sólo Cerdo Ibérico*, 3, 51-66.
- Espárrago F. Cabeza de Vaca F y Molia M. R. (1999b). Censos y precios de porcino Ibérico. 1986-199. *Sólo Cerdo Ibérico*, 2, 113-122.
- Fernández San Juan, P.M. 2000. Fatty acid composition of commercial Spanish fast food and snack food. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13, 275
- Flores J., Biron C., Izquierdo L y Nieto P. (1988). Characterization of green hams from Iberian pigs by fast analysis of subcutaneous fat. *Meat Science*, 23, 253-262.
- German, J.B. (1990). Muscle lipids. *Journal of Muscle Foods*, 1, 33-361.
- Girard J. P., Buscarles C., Berdagüé J. L. y Ramihone M. (1989). *Fleischwirtsch*, 69, 255.

- Gómez Nieves J. M^a, Calero R. y Marín Sánchez J. El cerdo Ibérico y su entorno. En: *Las carnes de Extremadura. El cerdo Ibérico* (2^a edición revisada). Gómez Nieves J. M^a y Robina A (editores). Junta de Extremadura, Consejería de Sanidad y consumo, pp 13-25.
- Convenio MAPA-ASICI. <http://www.mapa.es/alimentacion/pags/iberico/convenio-mapa-asici.pdf>.
- Hu F. B., Stampfer M. J., Manson L. L., Rimm L., Colditz G. A., Rosner B. A., Hennekens C. H. y Willet W. C. (1997). Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *The New England Journal of Medicine*, 337, 1491-1499.
- Igene, J. O., & Pearson, A. M. (1979). Role of phospholipids and triglycerides in warmed-over-flavor development in meat model systems. *Journal of Food Science*, 44, 1285-1290.
- Jiménez Colmenero F. (2000). Relevant factors in strategies for fat reduction in meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 11, 56-66.
- Kromhout D., Keys A., Menotti A., Blackburn H., Bloemberg B. P. M., Buzina R., Dontas A. S., Fidanza F., Giampaoli S., Jamsen A. M., Karvonen M. J., Kafan M. B., Mohacek I., Nissinen A., Nedeljkovic S., Pekkanen J., Pekkarinen M., Punsar S., Räsänen L., Simic B. y Toshima H. (1995). Dietary saturated and trans fatty acids, cholesterol and 25-year mortality from coronary hearth disease. *Prev Med*, 24, 308-315.
- Latorre M.A., Lázaro R., Gracia M., Nieto M., y Mateos G.G. (2003). Effect of sex and Terminal sire genotype of performance, carcass and meta quality of pig slaughtered at 117 kg body wieight. *Meat Science*, 65, 1369-1377.
- López Bote C., Sanz M., Isabel B., Perez de Ayala P. y Flores A. (1997). Effect of diatary lard on performance, fatty acid composition and susceptibility to lipid peroxidation in growing-finishing female and entire male pigs. *Canadian Journal of Animal Science*, 77, 301-306.
- Lopez-Bote C. J. (1998a). Sustained utilization of the Iberian Pig Breed. *Meat science*, 49 (1), 17-27.
- López Bote C. Isabel B y Rey A. I. (1998b). Alimentación del cerdo Ibérico y calidad de la producción cárnica. *Anaporc*, 177, 50-73
- López Bote C. (1999). Alimentación del cerdo Ibérico en la fase de cebo. I Jornadas sobre el cerdo Ibérico y sus productos, Guijuelo, 125-133.
- López Bote C. (2001a). Alimentación del cerdo Ibérico con piensos compuestos. En: *Porcino Ibérico: aspectos claves*. Buxadé C y Daza A (editores). Ed Mundiprensa Libros S.A., Madrid, España, 247-272.
- López Bote C. y Menoyo D. (2001b). Influencia de la alimentación animal en la calidad de sus productos. *ANAPORC, Revista de Porcinocultura*, 212, 58-74.
- Mattson F.H. y Grundy S.M. (1985). Comparison of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *Journal Lipid Research*, 26, 194-197.
- Mayoral A. I., Guillén M^a. T., Vivo J. M. y Robina A. (2005). Anatomía aplicada de la carnización del cerdo Ibérico. En: *Las carnes de Extremadura. EL cerdo Ibérico* (2^a edición revisada). Gómez Nieves J. M^a y Robina A (editores). Junta de Extremadura, Consejería de Sanidad y consumo, pp 41-73.
- Mottram, D.S. y Edwards, R.A. (1983). The role of triglycerides and phospholipids in the aroma of cooked beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34, 517-522.
- Muñoz Luna A., Garrido M^a. D. y Ros Burruezo G. (1996). *El Cerdo en la Alimentación*. Edita Fuentes S. A.

- OMS. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation*. WHO Technical Report Series 916, Geneva.
- Palumbo S. A., Komanowsky M., Metzger V y Smith J. L. (1977). Kinetics of pepperoni drying. *Journal of Food Science*, 42, 1029.
- Petrón M. J., García Regueiro J. A., Martín L., Muriel E. y Antequera T. (2003). Identification and quantification of cholesterol and cholesterol oxidation products in different types of Iberina hams. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5786-5791.
- Piironen V., Torvo J. y Lampi A.-M. (2002). New data for cholesterol contents in meat, fish, milk, eggs and their products consumed in Finland. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 705.
- Rey A. I., Isabel B., Cava R., y Lopez-Bote C. J. (1998). Dietary acorns provide a source of gamma-tocopherol to pigs raised extensively. *Canadian Journal of Animal Science*. 78, 441-443.
- Ross R. (1986). The pathogenesis of atherosclerosis-an update. *New England Journal of Medicine*, 314, 488-496.
- Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Andrés, A. y García, C. (2000). Texture and appearance of dry-cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International*, 33, 91-95.
- Ruiz J. y López Bote C. (2002a). Improvement of dry-cured hams quality by lipid modification through dietary means. En *Research Advances in the Quality of Meat and Meat Products*. Research Singpost, Trivandrum, Kerala India, 2555-271.
- Ruiz J., García C., Muriel E., Andrés A. I. y Ventanas, J. (2002b). Influence of sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science*, 61, 347-354.
- Ruiz, J.; Muriel, E.; Ventanas, J. The flavour of Iberian ham. (2002c). En *Research Advances in the Quality of Meat and Meat products*; Toldrá, F., Ed.; Research Singpost; Trivandrum Kerala, India,; pp 290-309.
- Sellier P. (1998). Genetics of meat and carcass traits. En: Rothschild M. F. y Ruvinsky A. (editores). *The genetics of the pig*. New Cork, CAB Internacional., 463-510.
- Simopoulus A. P. (1997). Diet and Gene interactions. *Food technology*, 51, 66-69.
- Tejeda J. F., Gandemer G., Antequera T., Viau M, García C. (2002). Lipids traits of muscles as related to genotype and fattening diet in Iberian pigs: total intramuscular lipids and triacylglycerols. *Meat Science*, 60, 357-363.
- U. S. Department of Health and Human Services (HHS) and Department of Agriculture (USDA). (2005). *Dietary Guidelines for America*. (www.health.gov/dietaryguidelines/dga2005).
- Ventanas S, Estévez M., Tejeda J. F. y Ruiz J. (2006). Protein and Lipid oxidation in *Longissimus dorsi* and dry-cured loin from Iberian pigs affected by crossbreeding and diet. *Meat Science*, 72(4), 647-655.
- Ventanas S., Ventanas J., Ruiz J. y Estévez M. (2005). Iberian pigs for the development of high-quality cured products. In *Recent Research in Development in Agricultural and Food Chemistry*. (pp. 27-53), Trivandrum, Kerala, India: Research Singpost.
- Vestergaard C. y Parolari G. (1999). Lipid and cholesterol oxidation products in dry-cured hams. *Meat Science*, 52, 397-401.
- Wood J. D., Richardson R.I., Nute G. R., Fisher A. V., Campo M.M., Kasapidou E., Sheard P. R. y Enser M. (2003). Effects of fatty acid on meat quality: a review. *Meat Science*, 66, 21-32.

Wood, J.D., Jones, R.C.D., Francombe, M.A. y Whelehan, O.P. (1986). The effects of fat thickness and sex on pig meat quality with special reference to the problems associated with overleanness. 2.

Laboratoy and trained panel results. *Animal Productions*, 43, 535-538.

Zanardi E., Novelli E., Ghiretti G. P. y Chizzolini R. (2000). Oxidative stability of lipids and cholesterol in salame Milano, coppa and Parma ham: dietary supplementation with vitamin E and oleic acid. *Meat Science*, 55, 169-175.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Para la realización de los diferentes estudios incluidos en la presente Tesis Doctoral se partió de los músculos *longissimus dorsi* (*l. dorsi*) de un total de 6 lotes de cerdos que diferían tanto en la genética como en la alimentación recibida por los animales durante la fase de cebo, la cual presentó una duración de 60 días (previos al sacrificio de los animales). En la figura 1 se presenta la secuencia seguida por los animales hasta el momento del sacrificio. En cuanto a la genética de los animales, se disponía de cerdos de raza Ibérica pura (IB) y cruzados con cerdo de raza Duroc al 50%, bien de madre de raza Ibérica pura (IBxD) o bien de madre de raza Duroc (DxIB). Durante la fase de cebo, parte de los animales fueron explotados en régimen intensivo y alimentados con piensos de diferentes características: pienso comercial denominado control (CON), o bien pienso enriquecido con girasol alto oleico y suplementado con α -tocoferol (250 ppm) (AOVE). El resto de animales se cebaron en régimen de montanera (MON) donde su alimentación se basó principalmente en el consumo de bellotas y de hierba.

En relación al manejo y explotación de los animales es necesario tener en cuenta una serie de consideraciones:

- La línea de cerdos Ibéricos (tanto los puros como la línea paterna o materna en los cruzados) fue en todos los casos la línea Retinta (variedad Valdesequera).
- La selección de los animales para la formación de los diferentes lotes experimentales se realizó cuando los animales alcanzaron un peso de 50 libras (unos 20 Kg.). Hasta el periodo de cebo (80 Kg.) se les suministró un pienso de crecimiento. Las características de este pienso se presentan en la tabla 1.
- En todos los lotes el número de animales de ambos sexos estuvo compensado; por otra parte, todos los animales fueron castrados.
- La composición química y en ácidos grasos de los piensos CON y AOVE así como de las bellotas y de la hierba se presentan en la tabla 2. En la tabla 3 se presentan los ingredientes de los piensos AOVE y CON. EL pienso CON y el pienso AOVE se formularon para que presentaban la misma energía kg^{-1} de pienso (isoenergéticos).
- Los animales de los 4 lotes experimentales cebados en intensivo (IBxD-CON, IBxD-AOVE, DxIB-AOVE y IB-AOVE) se localizaron en cuatro corrales individuales y continuos situados en la granja de la Facultad de Veterinaria. Al final de la fase de cebo se seleccionaron de cada lote (n=15) aquellos animales que presentaban un peso final alrededor de 165 Kg con el objetivo de disponer de lotes

homogéneos. Por esta razón no existe el mismo número de individuos (n) en cada lote experimental. Estos animales seleccionados fueron los que se sacrificaron. Los valores medios de los pesos de las canales para los diferentes lotes de cerdos se presentan en la tabla 4.

En la figura 2 se presentan las características de los diferentes lotes experimentales utilizados en función de la genética y la alimentación de los animales así como el número de individuos y de muestras por lote. En la presente Tesis Doctoral se emplearon muestras de dos lotes diferentes de cerdos de montanera, IB-MON e IB-SR.

Tras el sacrificio de los animales y su posterior despiece, se tomó el músculo *l. dorsi* de cada individuo. Las determinaciones analíticas que se realizaron durante la fase experimental se describen en el esquema presentado en la figura 3.

En todos los capítulos de la presente Tesis Doctoral, a excepción de los capítulos VI y VII, se emplearon muestras del músculo *l. dorsi* y/o del lomo curado procedentes de los tres lotes AOVE, del lote IBxD-CON y del lote de animales de montanera IB-MON.

Para la realización del estudio correspondiente al capítulo VI (sistemas modelos) se emplearon únicamente liposomas procedentes de la fracción de lípidos polares del músculo *l. dorsi* de los lotes IBxD-CON e IB-MON

Los músculos *l. dorsi* y los lomos procesados procedentes del lote de cerdos de montanera IB-SR únicamente se emplearon para realizar del estudio correspondiente al análisis de los compuestos volátiles durante la fase de maduración en lomos de diferente contenido en grasa intramuscular, que corresponde al capítulo VII de la presente tesis doctoral.

Para la realización de los capítulos II, III, IV, V, VII y VIII se utilizaron muestras de lomo curado. El procesado de los lomos se realizó en todos los casos tomando la mitad caudal del músculo *l. dorsi* y se caracterizó por no incluir ni especias, ni ajo, ni pimentón, ni aceite durante la fase de salado-adobo en bombo. Igualmente, la parte craneal de los lomos se sometió al mismo proceso de maduración, siendo estas las muestras empleadas en la realización del test de consumidores del capítulo V. El proceso de maduración de los lomos seguido en todos los casos fue el siguiente: tras permanecer los lomos 48 horas a refrigeración se procedió a realizar la fase de salado-adobo en bombo. Posteriormente permanecieron 4 días a refrigeración para permitir la correcta penetración de la sal. A continuación, tras el escurrido y el embutido en tripas artificiales de colágeno, se mantuvieron durante aproximadamente un mes a refrigeración (30-31 días). Esta primera parte se realizó en la empresa Dehesa Serrana situada en la población de Aliseda (Cáceres) bajo la supervisión del director técnico de la planta Antonio Librán. La fase final de

secado–maduración (60días) en los secaderos piloto de la unidad de Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria de Cáceres (figura 4) a una temperatura de 10-16°C y una humedad relativa (HR) de 75-80%

Figura 1. Antecedentes y evolución seguida por los animales.

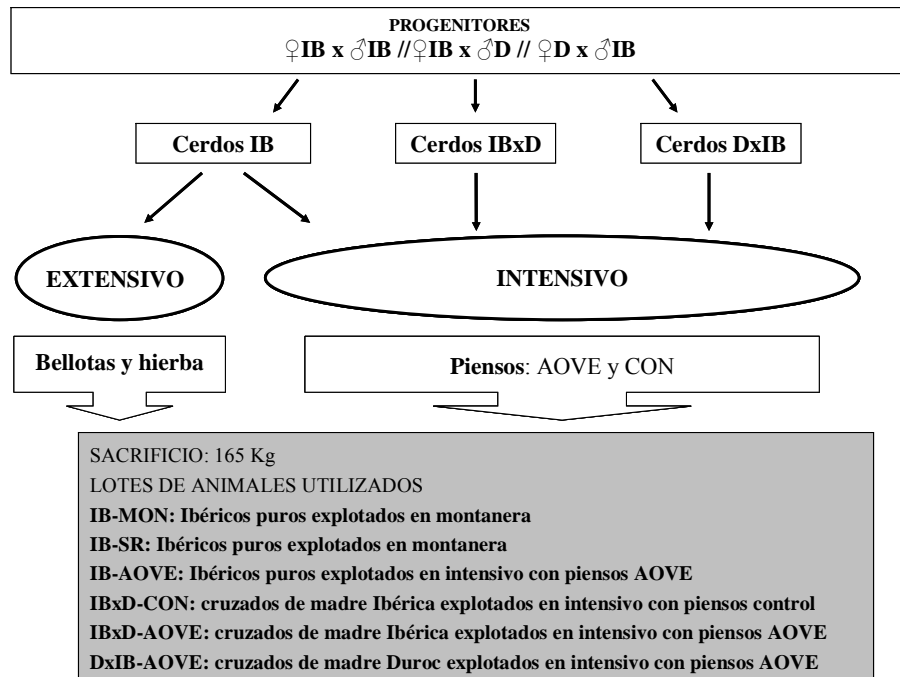


Figura 2. Características de los diferentes lotes experimentales

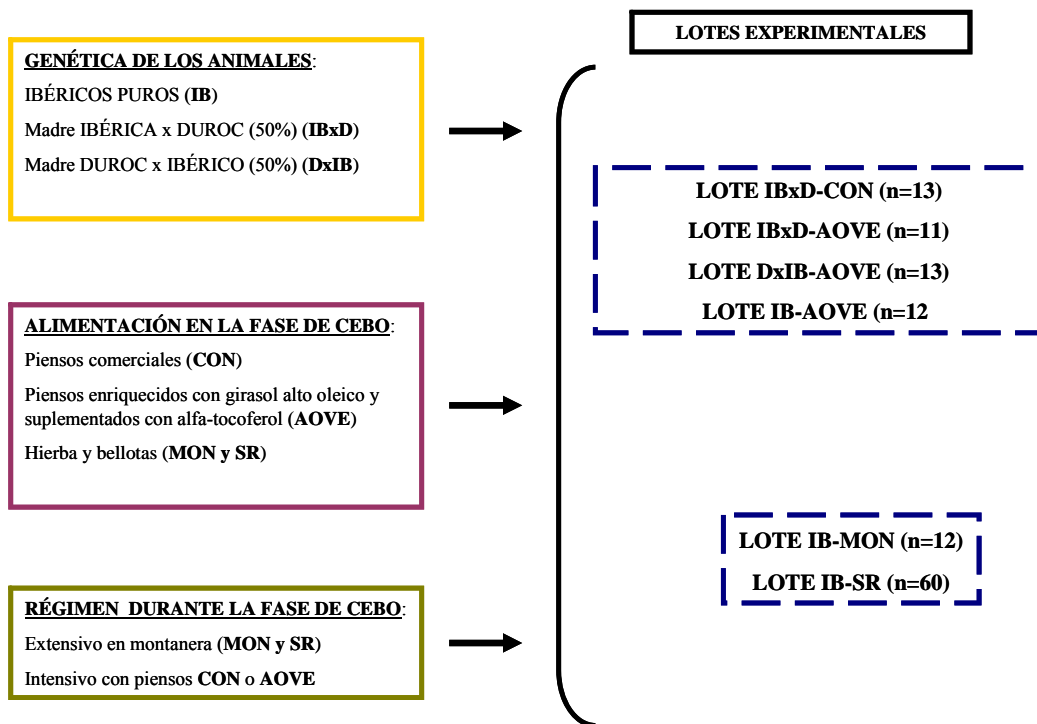


Figura 3 Toma de muestras, determinaciones analíticas y procesado.

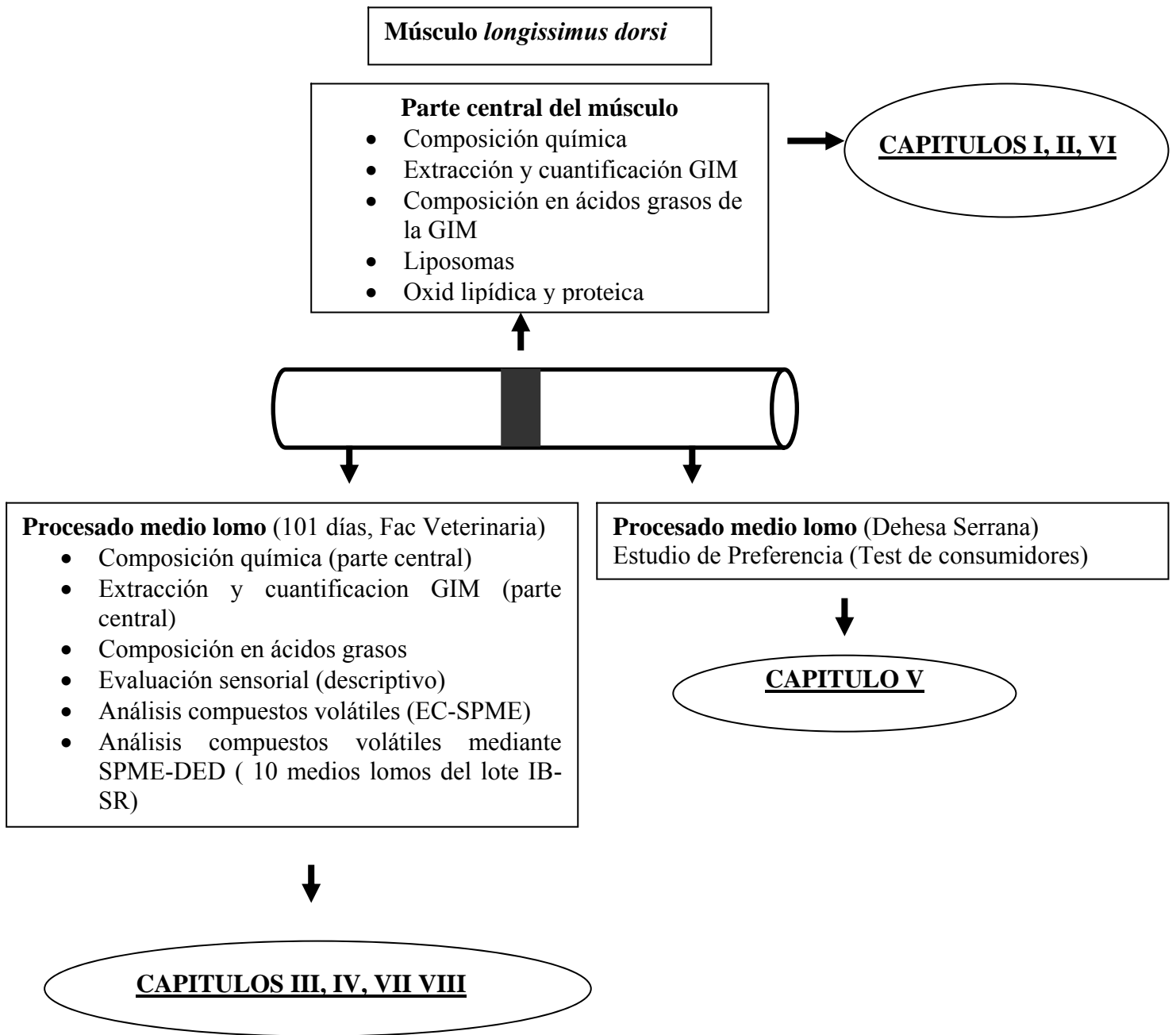


Tabla 1. Composición química y perfil de ácidos grasos (% de ésteres metílicos de ácidos grasos –FAMES-) de los piensos suministrados a los animales hasta los 80 kg.

Pienso ¹	
Materia seca ²	91.48
Cenizas ²	4.60
Proteína bruta ²	18.28
Fibra bruta ¹	5.52
Grasa Bruta ²	1.30
SELN ²	70.30
Ácidos grasos (%)	
C16	16.30
C18	1.95
C18:1 (n-9)	20.09
C18:2 (n-6)	56.45
C18:3 (n-3)	4.62
Σ SFA	18.56
Σ MUFA	20.39
Σ PUFA	61.07

¹ Pienso hasta los 80 Kg.

² Expresado en % de materia seca

S.E.L.N.: sustancias extractivas libres de Nitrógeno

Tabla 2. Composición química y perfil de ácidos grasos (% de FAMES) de los alimentos recibidos por los animales durante la fase de cebo.

	CONTROL	AOVE	BELLOTAS	HIERBA
Materia seca	88.66	90.54	53.9	10.76
Cenizas ¹	3.95	4.62	2.17	8.46
Proteína ¹	16.72	16.95	8.05	40.06
Fibra bruta ¹	3.29	5.69	1.87	20.2
Grasa ¹	3.55	8.29	7.18	3.07
S.E.L.N. ¹	72.49	64.45	86.07	28.21
Acidos grasos (%)				
C16.0	18.49	7.44	11.62	14.31
C18:0	5.76	3.46	nd	2.04
C18:1 (n-9)	30.8	67.05	66.15	5.37
C18:2 (n-6)	39.8	20.12	18.38	11.71
C18:3 (n-3)	2.82	1.5	2.66	59.26
ΣAGS	25.05	11.06	12.09	21.68
Σ AGMI	32.32	67.32	66.88	7.35
Σ AGPI	42.62	21.62	21.04	70.97

¹ Expresado en % sobre materia seca

S.E.L.N.: sustancias extractivas libres de Nitrógeno

Tabla 3. Ingredientes de los piensos (%) AOVE y CON suministrado a los animales de los lotes IBxD-CON, IBxD-AOVE, IB-AOVE y DxIB-AOVE durante la fase de cebo

	PIENSO AOVE	PIENSO CONTROL
Cebada	48	15
Trigo	15	50
Salvado	15	--
Maiz	--	20
Soja meal 44	8.5	11
Pulpa de remolacha	5	--
Girasol alto oleico	5.75	--
Tocino	--	1.2
Carbonato de calcio	0.9	0.8
Fosfato	0.7	1.1
Cloruro sódico	0.4	0.4
Corrector	0.5	0.5
Mix vit E (250 ppm)	0.25	--

Tabla 4. Valores (medias \pm desviación típica) correspondientes a los pesos medios de las canales tras el sacrificio

LOTES	Peso canal (Kg)
IBxD-CON	138.23 \pm 7.74
IBxD-AOVE	135.27 \pm 13.68
IB-AOVE	131.17 \pm 8.14
DxIB-AOVE	137.84 \pm 7.15
IB-MON	130.43 \pm 3.56

PLANTEAMIENTOS Y OBJETIVOS

La extraordinaria y reconocida calidad sensorial de los productos derivados del cerdo Ibérico, jamones, paletas y lomos, está estrechamente ligada a unas características muy particulares del sistema productivo que proporciona la materia prima de partida, así como al proceso de elaboración donde además de una fase de salazonado hay una etapa de maduración, lo que supone profundas transformaciones físicas y químicas que contribuyen a la excepcional calidad sensorial presentado por estos productos. Tal es la importancia que los productos derivados del cerdos Ibérico han venido teniendo los últimos años en el sector cárnico español, que se hizo necesario el establecimiento de una normativa marco que regulara el sector del cerdo Ibérico (Norma de Calidad, BOE 2001), que ampliara las directrices exigidas por las diferentes Denominaciones de Origen.

Una de las exigencias establecidas en la Norma de Calidad, es la obligatoriedad de utilizar como línea materna la raza Ibérica pura en los cruces con la raza Duroc para que estos cerdos cruzados sean considerados como Ibéricos. En este sentido, algunos trabajos previos han realizado un estudio comparativo en términos productivos, de calida de carne y de calidad de los productos derivados incluido el lomo curado, entre el empleo de la raza Ibérica o Duroc como línea materna para el cruce Ibérico x Duroc (Morcuende, 2005). No obstante, en estos trabajos únicamente se compara entre ambos tipos de cruces de forma que las posibles ventajas o deficiencias frente a la utilización de la raza Ibérica en pureza no se pudieron establecer. Además, no existen datos contrastados científicamente en relación a las diferencias de calidad entre los cerdos Ibéricos puros y los cruzados con Duroc al 50%, ni de la base química ni genética que la sustenta.

Por otra parte, la Norma de Calidad establece cómo método oficial el análisis de la composición en ácidos grasos de la grasa del tejido adiposo mediante cromatografía gaseosa para la clasificación de la materia prima en función de la alimentación recibida por los animales durante la fase de cebo. Las últimas campañas han puesto de manifiesto la falta de eficacia de este método analítico, como consecuencia principalmente de la utilización generalizada de piensos enriquecidos en ácido oleico (C18:1 n-9) para el cebo de cerdos. Si bien algunos autores (Murriel, 2003) han estudiado el perfil de ácidos grasos de cerdos alimentados con este tipo de piensos, dichos análisis se han limitado en la mayoría de los casos a la composición en ácidos grasos de la grasa intramuscular y por tanto los resultados obtenidos no serían útiles para valorar la efectividad del método oficial que se realiza sobre tejido adiposo subcutáneo. Por tanto se hace necesario, por una parte, evaluar la efectividad del método oficial comparando materia prima no sólo de cerdos de montanera y de cerdos cebados con piensos alto oleico sino también con cerdos cebados

con piensos comerciales no enriquecidos en este ácido graso. Por otra parte, la búsqueda de métodos alternativos y /o complementarios al oficial es imprescindible para conseguir una adecuada clasificación de la materia prima cuyas características van a determinar en gran medida la calidad del producto final.

La importancia decisiva del contenido y características de la grasa intramuscular (GIM) en atributos sensoriales como el brillo, jugosidad, intensidad de veteado, todos ellos relacionados con la calidad sensorial final de los productos derivados del cerdo Ibérico, ha sido descrita principalmente para el jamón y en menor medida para el lomo curado. En este sentido, aunque en un trabajo anterior (Muriel y cols., 2004) se definió el perfil sensorial del lomo curado, la presencia del adobo tuvo un efecto marcado en los resultados obtenidos. Por otra parte, aunque el contenido en GIM parece ser un factor determinante en la calidad sensorial percibida por paneles de catadores entrenados, no existen estudios referidos a la aceptabilidad y jugosidad percibida por consumidores en un producto curado íntegro como el lomo, así como la influencia que sobre estos parámetros tiene el contenido en GIM, así como los factores que lo determinan, principalmente la genética y la alimentación.

Durante el procesado de los lomos tienen lugar un gran número de reacciones químicas y bioquímicas en las que participan como sustratos tanto lípidos como proteínas. Si bien la oxidación lipídica ha sido un fenómeno estudiado ampliamente en los productos del cerdo Ibérico, no existen estudios relacionados con la oxidación de proteínas, con la efectividad de la presencia del α -tocoferol como modulador de estas reacciones, ni que profundicen en la posible relación entre la oxidación lipídica y proteica.

El flavor es junto a la jugosidad, el atributo que determina en mayor medida el grado de aceptabilidad del jamón Ibérico, y por extensión de los productos del cerdo Ibérico, por parte de los consumidores (Ruiz y cols., 2002). El perfil de compuestos volátiles tanto del jamón Ibérico como del lomo Ibérico ha sido estudiado previamente, e incluso se han definido una serie de compuestos olor-activos para el jamón Ibérico (Carrapiso y cols., 2002). No obstante, existen controversia en cuanto a la posibilidad de desarrollo de determinadas reacciones (en concreto reacciones de Maillard y degradación de Strecker de ciertos aminoácidos) implicadas en la formación de determinados compuestos volátiles, algunos de ellos descritos como olor-activos (3-metilbutanal), en las condiciones de maduración de un producto cárnico sin la participación de microorganismos. Por otra parte, aunque el mecanismo de formación de gran parte de los compuestos volátiles de interés en los productos del cerdo Ibérico se ha estudiado extensamente, no existen trabajos referidos

al papel que el contenido en GIM puede ejercer sobre la liberación de estos compuestos y en definitiva en su posterior percepción.

Finalmente, el lomo podría constituir un interesante modelo para estudiar la influencia de factores como la genética y la alimentación tanto sobre la calidad de la materia prima como sobre la calidad del producto final, incluido el perfil de compuestos volátiles. En este sentido, al igual que el jamón, el lomo es una pieza íntegra y además presenta la ventaja de que los tiempos de curación son mucho más reducidos.

Teniendo en cuenta estos planteamientos, los objetivos de esta tesis doctoral fueron:

1. Conocer la influencia de la genética (raza Ibérica frente a cruzados con Duroc y cruzados de madre Duroc frente a cruzados de madre Ibérica) y la alimentación durante la fase de cebo (piensos comerciales, piensos enriquecidos con girasol alto oleico y suplementados con α -tocoferol y montanera) en aspectos relacionados con la calidad de la materia prima (*longissimus dorsi*) y del lomo curado, principalmente aquellos determinados por el contenido y características de la grasa intramuscular.
2. Evaluar la utilidad de diferentes métodos alternativos y/o complementarios al método oficial establecido por la Norma de Calidad para la clasificación de la materia prima en función de la alimentación recibida por los animales durante la fase de cebo.
3. Establecer la influencia de la genética y la alimentación sobre la oxidación lipídica y proteica del músculo *longissimus dorsi* y del lomo curado.
4. Conocer el efecto que la genética y la alimentación, así como el contenido en grasa intramuscular, tienen sobre las características sensoriales del lomo curado de cerdo Ibérico y sobre la preferencia de los consumidores por este producto.
5. Evaluar la formación de compuestos volátiles derivados de la degradación de Strecker en sistemas modelo que incluyan fosfolípidos del músculo *longissimus dorsi* de cerdos Ibéricos en condiciones similares a las de maduración de un producto cárnico y en ausencia de microorganismos.
6. Conocer la influencia del contenido en GIM sobre la formación y sobre la dinámica de liberación de los compuestos volátiles durante el período de maduración del lomo curado de cerdo Ibérico.
7. Conocer el efecto de la genética y de la alimentación en el perfil de compuestos volátiles de lomos curados de cerdos Ibéricos sin adobo.

Referencias

- BOE. Boletín Oficial del Estado. (2001). Real Decreto 1083/2001, de 5 de Octubre, por el que se aprueba la norma de calidad para el jamón Ibérico, paleta ibérica y caña de lomo Ibérico elaborados en España. *B.O.E.*, 247, 15 de Octubre, 37830-37833
- Carrapiso A.I., Jurado A., Timón M. L. y García, C. (2002). Odor-Active Compounds of Iberian Hams with Different Aroma Characteristics *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6453-6458.
- Morcuende D. (2005). Evaluación tecnológica de la carne de cerdo Duroc y sus cruces con el cerdo Ibérico destinada a la producción de carne fresca y su transformación en productos cárnicos curados. *Tesis Doctoral*. Universidad de Extremadura
- Muriel E. (2003). Estudio comparativo de parámetros físico-químicos y sensoriales de lomo Ibérico. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura. España.
- Muriel E., Antequera T Petró M.J., Andrés A. AI. y Ruiz J.(2004) Volatile compounds in Iberian dry-cured loins. *Meat Science*, 68 (3), 391-400.
- Ruiz J., García C., Muriel E., Andrés A. I. y Ventanas, J. (2002). Influence of sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science*, 61, 347-354.

CAPÍTULOS

CAPÍTULO I

CARACTERÍSTICAS DE LA GRASA SUBCUTÁNEA E INTRAMUSCULAR (*Longissimus dorsi*) DE CERDO IBÉRICO: INFLUENCIA DE LA GENÉTICA Y LA ALIMENTACIÓN

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió el perfil de ácidos grasos de la grasa subcutánea (método oficial de clasificación de la materia prima establecido por la Norma de Calidad, BOE, 2001) y de la grasa intramuscular (GIM) del músculo *longissimus dorsi* (*l. dorsi*) de cerdos de diferente genética: Ibéricos puros (IB), Ibérico x Duroc, 50% de madre Ibérica (IBxD), Duroc x Ibérico, 50% de madre Duroc (DxIB), y con diferente alimentación durante la fase de cebo: pienso control en régimen intensivo (CON), piensos enriquecidos con girasol alto oleico y suplementados con 250 ppm de α -tocoferol en régimen intensivo (AOVE) y por último hierba y bellotas en régimen de montanera (MON). Así mismo, se evaluó la utilidad de distintas técnicas analíticas para la diferenciación de la materia prima en función de la alimentación y/o la genética de los animales: el contenido en grasa intramuscular (GIM) del músculo *l. dorsi*, el contenido en neofitadieno (3-metileno-7,11,15-trimetilhexadeceno-1-eno) de la grasa subcutánea, el contenido en α y γ -tocoferol del músculo *l. dorsi* y por último se estudió la posibilidad de emplear una técnica analítica rápida y no destructiva basada en la medida de la velocidad de los ultrasonidos en la grasa subcutánea. La alimentación de los animales se reflejó en el perfil de ácidos grasos de la grasa subcutánea de los lotes estudiados. Así, el lote IBxD-CON se caracterizó por presentar un mayor contenido en ácidos grasos saturados (AGS) y menor en ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), principalmente en ácido oleico (C18:1 n-9), mientras que el lote IB-MON se caracterizó por presentar un contenido en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) significativamente ($p < 0.05$) inferior al resto de lotes. En cuanto al perfil en ácidos grasos de la GIM del músculo *l. dorsi*, la fracción de lípidos polares fue la que reflejó en mayor medida la alimentación recibida por los animales durante la fase de cebo, destacando el contenido en AGMI y en ácido oleico (C18:1 n.9) de los lotes alimentados con fuentes ricas en este ácido graso (lotes AOVE y lote IB-MON). Aunque se observaron ciertas diferencias en el perfil de ácidos grasos de la grasa subcutánea en función de la genética de los animales (Ibéricos frente a cruzados con Duroc), la influencia más marcada se encontró para el contenido en GIM que fue superior en los lotes procedentes de cerdos de raza Ibérica pura (IB-AOVE y IB-MON) en comparación con los niveles presentados por los lotes de cerdos cruzados (IBxD-CON, IBxD-AOVE y DxIB-AOVE). La detección del hidrocarburo ramificado neofitadieno y del γ -tocoferol en el lote IB-MON, permitió diferenciarlo de los lotes AOVE, que presentaban sin embargo un perfil en ácidos grasos muy similar a los de montanera, siendo por tanto difícilmente distinguibles mediante el

método oficial de clasificación basado en el análisis de la composición en ácidos grasos de la grasa subcutánea. Por último, las medidas de la velocidad de ultrasonidos de las muestras del lote IBxD-CON fueron superiores a las presentadas por el resto de lotes, como consecuencia del mayor contenido en AGS y por tanto de una mayor proporción de grasa sólida en relación a la líquida. Así mismo, la utilización de esta técnica permitió diferenciar el lote de montanera del resto de lotes en base a una serie de cocientes que relacionaban las medidas de velocidad realizadas a diferentes temperaturas.

Palabras Clave: Grasa Intramuscular, Perfil de Ácidos Grasos, Neofitadieno, Tocoferol, Ultrasonidos.

I.1. INTRODUCCIÓN

La Norma de Calidad para los productos derivados del cerdo Ibérico (BOE, 2001) así como las directrices oficiales establecidas para la realización de los análisis de composición en ácidos grasos (BOE, 2004) que tienen como objetivo clasificar la materia prima procedente de cerdos Ibéricos viene suscitando una gran controversia. Los resultados obtenidos en la clasificación de la materia prima durante las últimas campañas, principalmente en lo que se refiere al tipo de alimentación recibida durante la fase de cebo, han puesto de relieve la falta de efectividad y de fiabilidad de éste método oficial de clasificación, planteando la necesidad de buscar e implantar métodos alternativos y/o complementarios al método oficial de análisis de ácidos grasos. Actualmente, son numerosos los esfuerzos y estudios que se han puesto en marcha con el objetivo de buscar métodos de clasificación de la materia prima que eviten fraudes e integren las demandas y necesidades del ganadero, del industrial y del consumidor del producto final (Ventanas, 2005).

La Norma de Calidad establece unos requisitos que son necesarios cumplir para producir y comercializar jamones, paletas o caña de lomo bajo la denominación “de cerdo Ibérico”. En primer lugar, en relación a la raza, con el objetivo de salvaguardar el patrimonio genético de una raza autóctona como es la raza Ibérica, únicamente pueden acogerse a esta Norma de Calidad los jamones, paletas o lomos producidos a partir de cerdos de raza Ibérica pura o en el caso de que sean cerdos procedentes del cruce de Ibérico con Duroc o Duroc-Jersey, estando estipulado que la hembra reproductora debe ser de raza Ibérica pura, mientras que el macho reproductor puede pertenecer a las raza Ibérica, Duroc o Duroc-Jersey, puro o resultante del cruce entre ellas. Para que sean reproductores Ibéricos puros

deben estar inscritos en el Libro Genealógico de la Raza porcina Ibérica o ser certificados como tales por una entidad de control y certificación reconocida, en base a los parámetros establecidos por el Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación en colaboración con la Asociación Española de Criadores de ganado Porcino Selecto Ibérico Puro y Tronco Ibérico (AECERIBER) (BOE 2001). En segundo lugar, la Norma establece diferentes designaciones de calidad para el producto final teniendo en cuenta la alimentación recibida por los animales durante la fase de cebo: (i) de bellota o terminado en montanera (ii) de recebo o terminado en recebo y (iii) de cebo.

El método oficial establecido para la clasificación de la materia prima se basa en la determinación analítica de la composición en ácidos grasos de los lípidos totales del tejido adiposo subcutáneo de los cerdos Ibéricos mediante cromatografía de gases. La toma de muestras se debe realizar sobre la canal del animal a nivel de la rabadilla (aproximadamente a 10 cm del rabo siguiendo la línea del espinazo) con unas medidas establecidas (3 x 3 cm o un trozo no superior a 5 cm) y contener la piel, la grasa existente desde la piel al magro y algo de magro. La clasificación se realiza en base a los porcentajes obtenidos de los cuatro ácidos grasos mayoritarios (ácido palmítico, C16:0; ácido esteárico, C18:0; ácido oleico, C18:1 n-9 y ácido linoléico, C18:2 n-6) (BOE, 2004). Para cada campaña, la Asociación Interprofesional del cerdo Ibérico (ASICI) propone al M.A.P.A unos valores (intervalos) analíticos para cada uno de estos cuatro ácidos grasos, en función de los cuales los cerdos se pueden clasificar en tres grupos diferentes de alimentación: de bellota, de recebo o de cebo. Así por ejemplo para la campaña 2004-2005, los valores analíticos para los cuatro ácidos grasos de referencia que debían presentar los cerdos clasificados como de bellota eran los siguientes: ácido palmítico (C16:0) menor o igual a 21.7%, ácido esteárico (C18:0) menor o igual a 10.1%, ácido oleico (C18:1 n-9) mayor o igual a 53.5% (valor máximo admitido en este grupo 58%) y ácido linoleico (C18:2 n-6) menor o igual a 10.0% (Convenio MAPA-ASICI).

Sin embargo, desde hace algunos años las visitas realizadas por inspectores con el objetivo de constatar el sistema de alimentación “in situ” (sistema utilizado por las Denominaciones de Origen D.O. e incluso por la Norma de Calidad), han puesto de manifiesto que el método oficial de clasificación basado en la analítica de los ácidos grasos conduce a un considerable número de falsos positivos (cerdos clasificados como de bellota cuando su cebo se ha realizado con piensos) y falsos negativos (cerdos criados en montanera que no presentan el perfil de ácidos grasos exigido para incluirse dentro del grupo de alimentación de bellota) y por tanto resulta inadecuado. En relación a los falsos positivos, el empleo de

una forma generalizada de piensos engrasados (6-8% de grasa bruta) y enriquecidos en AGMI, principalmente ácido oleico (hasta un 70% del total de ácidos grasos) a través de la incorporación de determinadas oleínas o más recientemente de girasol alto oleico, permiten la obtención de un perfil en ácidos grasos idéntico al de una alimentación en montanera siendo en muchas ocasiones los niveles de C18:1 presentados por cerdos alimentados con estos piensos superiores a los detectados en cerdos criados exclusivamente en montanera con bellotas y hierba. En segundo lugar, la aparición de falsos negativos obedece en muchas ocasiones a la baja disponibilidad de bellotas por razones de tipo climatológico o también al perfil de ácidos grasos de los piensos de pre-montanera.

Estos antecedentes, han llevado a que en los últimos años muchas de las investigaciones científicas en el campo del cerdo Ibérico se hayan centrado en la búsqueda de métodos alternativos al análisis de los ácidos grasos que permitan llevar a cabo una clasificación adecuada de la materia prima en función de la alimentación que han recibido los animales durante la fase de cebo. En este sentido, algunos compuestos pertenecientes a la fracción insaponificable, presentes en la hierba o en las bellotas consumidas por los cerdos explotados en montanera como el hidrocarburo ramificado neofitadieno (Tejeda y cols., 2001) así como el γ -tocoferol (Rey y cols., 2006) se han propuesto como posibles marcadores de extensividad, al detectarse principalmente en muestras procedentes de cerdos explotados en extensivo que consumieron exclusivamente hierba y bellotas. Sin embargo, los métodos analíticos utilizados en la detección de este tipo de compuestos únicamente se han empleado para un número limitado de muestras, en lotes experimentales con fines científicos y no están lo suficientemente estandarizados y normalizados, como sí ocurre con el análisis de la composición en ácidos grasos, por lo que se requieren nuevos estudios que verifiquen su posible utilidad como métodos objetivos de clasificación.

En el presente capítulo se plantearon los siguientes objetivos. En primer lugar confirmar o no la utilidad del análisis de la composición en ácidos grasos mediante cromatografía de gases (método oficial) en la clasificación y diferenciación de la materia prima procedente de cerdos que recibieron diferente alimentación durante la fase de cebo: bellotas y hierba en montanera, piensos enriquecidos con girasol alto oleico y suplementados con alfa-tocoferol y piensos comerciales. En segundo lugar, evaluar si existen diferencias en las características y composición en ácidos grasos de la grasa subcutánea y de la grasa intramuscular (GIM) en función de la genética de los animales: Ibérico puro (aceptado por la Norma de Calidad), Ibérico x Duroc de madre Ibérica (clasificado como Ibérico por la Norma de calidad) y Duroc x Ibérico de madre Duroc (no incluido en la Norma de

Calidad). Finalmente, evaluar posibles métodos alternativos y/o complementarios para diferenciar la materia prima en función de la alimentación recibida por los animales y de la genética de los mismos, en concreto, el contenido en neofitadieno de la grasa subcutánea y en tocoferol (α - y γ -) del músculo *l. dorsi*, así como medidas de la velocidad de los ultrasonidos relajadas en grasa subcutánea.

I.2. MATERIAL Y MÉTODOS

I.2.1. Material biológico y toma de muestras

Para la realización del presente estudio se emplearon muestras de grasa subcutánea (tocino dorsal) y muestras de músculo *longissimus dorsi* (*l.dorsi*) de cerdos procedentes de 5 lotes diferenciados en función de la genética, alimentación y sistema de explotación de los animales durante la fase de cebo (consultar diseño experimental): lotes IBxD-CON, IBxD-AOVE, DxIB-AOVE, IB-AOVE y IB-MON. Una vez sacrificados los animales con un peso vivo de 165 kg, se procedió a la toma de muestras de las localizaciones indicadas y posteriormente se almacenaron a congelación (- 80°C) hasta el momento de ser analizadas.

I.2.2. Análisis de los alimentos suministrados a los animales

Se realizó un análisis de la composición físico-química de las bellotas, la hierba y los piensos siguiendo los métodos descritos por la AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1990): la proteína bruta (954.01) se calculó a partir de la cuantificación del nitrógeno total de la muestra mediante el método Kjeldahl (976.05), grasa bruta (920.39), fibra bruta (962.09) y cenizas (942.05). Las sustancias extractivas libres de nitrógeno (S.E.L.N.) se calcularon por diferencia con el resto de las determinaciones realizadas (grasa, fibra, proteína, cenizas y humedad).

I.2.3. Extracción, cuantificación de la grasa y análisis de la composición en ácidos grasos de los alimentos y de las muestras de grasa subcutánea y músculo *l. dorsi*.

La extracción y cuantificación de la grasa de los alimentos y la GIM del músculo *l.dorsi* se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Bligh y Dyer (1959) utilizando cloroformo:metanol (1:2) como disolvente. La cantidad de muestra necesaria para cuantificar la GIM en el músculo *l.dorsi* se tomó en todos los casos de la parte central del mismo para evitar que influyera sobre los resultados obtenidos las posibles variaciones en el contenido en grasa presentes a lo largo del músculo. Para el análisis de la composición en ácidos grasos, en el caso de la GIM del *l.dorsi*, se procedió a un fraccionamiento previo de la grasa en lípidos neutros, lípidos polares y ácidos grasos libres, empleando

minicolumnas de aminopropil-NH₂ activadas con cloroformo y siguiendo el método descrito por Ruiz y cols. (2004).

Se analizó la composición en ácidos grasos de la grasa subcutánea, de la grasa de los alimentos y de las tres fracciones de la GIM del músculo *l.dorsi* mediante cromatografía en fase gaseosa. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAMES) se prepararon mediante trans-esterificación ácida en presencia de ácido sulfúrico (5% ácido sulfúrico en metanol) (Sandler y Karo, 1992). La separación y determinación de los FAMES se realizó con un cromatógrafo de gases (Hewlett-Packard HP 5890A), equipado con un inyector *on column*, y columna semicapilar de sílice fundido (30m x 0.53mm x 1.00µm) con fase estacionaria polar constituida por FFAP (Polietilenglicol-TPA modificado) mantenida a una temperatura de 225°C. Para la detección de los compuestos se empleó un detector de ionización de llama (FID). La temperatura del inyector y del detector fue de 230°C. El flujo del gas portador (N₂) fue de 1.8 ml min⁻¹. La identificación de los ácidos grasos se realizó comparando los tiempos de retención con los de los correspondientes patrones (Sigma, St Louis), analizados en las mismas condiciones cromatográficas. Los resultados se presentan como porcentaje de los ácidos grasos seleccionados.

I.2.4. Determinación y cuantificación del hidrocarburo ramificado neofitadieno en grasa subcutánea.

Se partió de 4 gramos de grasa subcutánea fundida en microondas que fue sometida a un proceso de saponificación alcalina (2 horas a 90°C y posterior enfriamiento hasta los 20°C) siguiendo el método descrito por Bories y Tulliez (1977). A continuación, la extracción de la fracción de hidrocarburos se realizó mediante separación en columna (columnas de vidrio de 10cm x 2 cm, rellenas de gel de sílice y compactadas mediante vacío) y posterior evaporación a sequedad bajo corriente de nitrógeno. El residuo de hidrocarburos se redilsovió en 200 µl de hexano junto con el patrón interno (p.i.) (n-eicosano) para su posterior análisis mediante cromatografía de gases. La separación, detección e identificación se llevó a cabo con un cromatógrafo de gases (Agilent modelo 6890) acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent 5973 MSD). La separación se realizó con una columna HP5-MS-5% de fenilmetil siloxano (30 m x 0,25 mm x 0.25 µm). La temperatura del inyector fue de 260°C con una presión de cabeza de columna de 14.3 psi. El gas portador empleado fue helio con un flujo de 1.3 ml min⁻¹. Las condiciones de temperatura del horno fueron las siguientes: temperatura inicial de 100°C, rampa de 6°C/min hasta una temperatura final de 270°C, manteniéndose a esta temperatura durante 6 minutos. La carrera cromatográfica tuvo una duración total de 34.33 minutos.

La identificación se llevo a cabo por comparación de los tiempos de retención con el de un patrón analizado en las mismas condiciones cromatográficas. La cuantificación se llevo a cabo mediante el empleo de un patrón interno (n-eicosano, n-C₂₀).

I.2.5. Determinación del contenido en α - y γ -tocoferol en el músculo *I.dorsi*

Para la determinación del contenido en α - y γ -tocoferol, se homogenizaron 0.8 gramos de músculo en 6 mL de buffer fosfato (0.054M, pH 7 ajustado con HCl). Tras añadir a la mezcla etanol absoluto y hexano y centrifugar las muestras (2000 rpm, 5 min, a 4°C), se recogió la parte superior, que contiene el tocoferol (ambos isómeros α - y γ -), y se sometió a evaporación bajo corriente de nitrógeno. Finalmente se redisolvió en etanol para su posterior análisis mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Hewlett-Packard Waldbronn, Germany, serie 1050, equipado con detector ultravioleta UVD, HPIB 10 detector). La separación del α - y el γ -tocoferol se realizó en una columna PR 18 (250 mm x 4mm y 5 μ m de tamaño de partícula) (Merck, Darsmstad Alemania). La fase móvil empleada fue metanol: agua (97:3) a un flujo de 2ml min⁻¹ y los picos se registraron a 292 nm. La identificación se realizó por comparación de los tiempos de retención con los correspondientes patrones de α - y γ -tocoferol y la cuantificación a partir de una cantidad conocida de los distintos patrones y se expresó en μ g g muestra⁻¹ (Rey y col., 1996)

I.2.6. Medida de la velocidad de ultrasonidos en grasa subcutánea (tocino dorsal) a diferentes temperaturas

Tras realizar la toma de muestras de la grasa subcutánea a nivel del tocino dorsal, se retiraron los restos de piel y músculo y las muestras se almacenaron a vacío y a congelación (-18°C) hasta la realización de las medidas de ultrasonidos.

El dispositivo para la realización de las medidas consiste en un transductor ultrasónico de banda estrecha (1 MHz, 0,75 pulgadas de diámetro de cristal, modelo A314S-SU, Panametrics, Waltham, MA, USA), un generador-receptor (Torneburst Computer Controled modelo, PR5000-HP, Matec Instruments, Northborough, MA, USA) y un osciloscopio digital (Tektronik TM TDS 420, Tektronik, Inc. Wilsonville, OR, USA), el cual esta conectado a un ordenador mediante una interfase GPIB. El grosor de la muestra se obtiene a partir de la medida de altura que le transmite el calibre (Electronic Height Gage, Model 752A, Athol, MA) conectado al ordenador a través de una interfase RS232.

El generador-receptor genera la señal eléctrica; los transductores se sitúan a ambas caras de la muestra y transforman la señal eléctrica en ultrasónica a la entrada en la muestra y al revés a la salida de la muestra. La señal llega al osciloscopio, donde se digitaliza y de ahí al

ordenador. En el ordenador, a partir de la medida de altura que le transmite el calibre (digital height gage) y la señal digitalizada, se calcula la velocidad teniendo en cuenta el retardo. Las medidas de velocidad se calculan a partir del dato del espesor de la muestra y del dato del tiempo que tarda la onda en atravesarla. El tiempo se calcula a partir del análisis de la señal de ultrasonidos digitalizada. El retardo es necesario considerarlo en la determinación de la velocidad porque tiene en cuenta el tiempo que tarda la señal en pasar por los cables y el equipo, que no debe considerarse como parte del tiempo que tarda en atravesar la muestra.

Las medidas de ultrasonidos se realizaron en 12 muestras por lote. Para llevar a cabo las medidas las muestras se cortaron en lonchas de 20 a 30 mm de grosor, se envasaron a vacío y se dispusieron en una cámara a temperatura controlada hasta que alcanzaron la temperatura establecida para cada medida. Una vez que las muestras alcanzaron la temperatura deseada, la medida de ultrasonidos se realizó a temperatura ambiente. Las posibles variaciones de temperatura de la muestra durante el análisis no se tuvieron en cuenta puesto el tiempo necesario para la realización de cada medida es muy corto, de apenas 15 segundos. Las medidas se realizaron a las siguientes temperaturas de las muestras: 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 20 y 22°C. Para conseguir un adecuado acoplamiento del dispositivo a las muestras se utilizó aceite de oliva a modo de “acoplante” (Simal y col., 2003).

I.2.7. Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados se empleo el paquete estadístico SPSS (versión 12.0). Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para determinara el efecto del lote sobre las diferentes variables estudiadas. En las variables en las que se apreciaron diferencias significativas ($P < 0.05$) se aplicó un Test de Tukey para determinar la existencia de diferencias entre las medias de los distintos lotes, estableciéndose un nivel de significación de $p < 0.05$.

I.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

I.3.1. Composición química y en ácidos grasos de los alimentos suministrados a los animales durante el periodo de cebo

En la tabla 1 se presentan los datos correspondientes a la composición química y a la proporción de los principales ácidos grasos de la grasa total de las bellotas, hierba y de los piensos (control y AOVE) consumidos por los animales durante la fase de cebo.

El análisis químico de los alimentos reveló que la hierba presentó los valores más elevados de cenizas (8.46% E.S), proteínas (21.75% E.S) y fibra bruta (20.2 % E.S.), mientras que las bellotas presentaron los mayores niveles de S.E.L.N. (86.07% E.S) y los menores de proteína (8.05% E.S.) en comparación con el resto de los alimentos analizados. El pienso AOVE presentó unos niveles de grasa superiores a los del pienso CON (8.29% E.S. vs 3.55% E.S.) pero similares a los obtenidos para las bellotas (7.18% E.S.), debido a la presencia del girasol alto oleico (5.75%) en el pienso AOVE. La composición química de la hierba, bellotas y el pienso control coincide con la descrita previamente por otros autores (Ruiz y cols. 1998; Andrés y cols., 2001; Tejeda y cols., 2002), así como la del pienso AOVE (Muriel y cols., 2002).

La proporción en ácidos grasos saturados (AGS) del pienso control (CON) y de la hierba (25.05% y 21.68%) fue superior a la presentada por el pienso AOVE y las bellotas (11.06% y 12.09%), como consecuencia de los mayores porcentajes obtenidos para los AGS mayoritarios: mirístico (C14:0), palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0) en el pienso CON y la hierba. Tanto la bellota como el pienso AOVE presentaron niveles de AGMI (67.32% y 66.88%) muy superiores a los obtenidos para el pienso CON y la hierba como consecuencia del alto contenido en ácido oleico (C18:1 n-9) en los dos primeros (67.05% y 66.15%). La hierba se caracterizó por presentar los niveles más elevados de AGPI (70.97%), representando el ácido linolénico (C18:3 n-3) más del 50% del total de ácidos grasos (59.26%). Los niveles más bajos de AGPI fueron obtenidos para el pienso AOVE y la bellotas (21.62% y 21.04%), siendo el ácido linoleico (C18:2 n-6) el ácido graso mayoritario en estos grupos (20.12% y 18.38%), mientras que el contenido en AGPI del pienso CON presentó unos valores intermedios (42.62%) con un porcentaje de ácido linoleico (c18:2 n-6) del 39.8%. Los resultados descritos para la composición en ácidos grasos de la bellota y la hierba coinciden en líneas generales con los descritos previamente por otros autores (Ruiz y cols. 1998; Tejeda y cols. 2002; Muriel y cols. 2002, Rey y cols., 2006).

Como consecuencia de la incorporación de girasol alto oleico en la formulación de los piensos AOVE, tanto el contenido graso como el perfil de ácidos grasos (altos niveles de AGMI y bajos de AGPI) de este tipo de piensos fueron similares a los de las bellotas analizadas. Con la utilización de este tipo de piensos durante el cebo de los cerdos Ibéricos en intensivo, se pretende conseguir en los animales unas características de la grasa (contenido y composición en ácidos grasos) similar a las presentadas por la grasa de los cerdos cebados en régimen de montanera. En estudios anteriores en los que se han

empleado bellotas, hierba y piensos alto oleico, la composición en ácidos grasos de la GIM fue similar a la descrita en el presente trabajo (Muriel y cols., 2002). El perfil de ácidos grasos presentado por el pienso CON coincide en líneas generales con los descritos en estudios previos donde se han empleado piensos comerciales de similares características, aunque los niveles de la suma total de AGMI resultaron algo elevados (30%) en comparación con otros estudios donde estos valores no superan el 25% del total de ácidos grasos (Cava y cols., 1997; Ruiz y cols., 1998; Tejeda y cols., 2002).

I.3.2. Composición en ácidos grasos de la grasa subcutánea y GIM del músculo *I.dorsi*

I.3.2.1. Tocino dorsal

En la tabla 2 se presentan los resultados correspondientes a la composición en ácidos grasos (% de ésteres metílicos) de los lípidos totales de las muestras de grasa subcutánea tomadas a nivel del tocino dorsal de los diferentes lotes en estudio:

Todos los ácidos grasos identificados así como la suma total de los AGS, AGMI y AGPI del tocino dorsal presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los 5 lotes estudiados. En términos generales, tanto la alimentación recibida por los animales como la genética de los mismos influyó en el perfil de ácidos grasos del tocino dorsal. El lote correspondiente a las muestras de tocino dorsal de los cerdos alimentados con el pienso control (con altos niveles en AGS y bajos en AGMI) (lote IBxD-CON) presentó unos niveles significativamente ($p < 0.05$) superiores al resto de los lotes estudiados en el total de AGS y en los ácidos grasos saturados mayoritarios palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0). Por el contrario, tanto el contenido del total de AGMI como de su representante mayoritario, el ácido oleico (C18:1 n-9), fue significativamente ($p < 0.05$) inferior para el lote IBxD-CON en comparación con los niveles presentados por los lotes de cerdos alimentados con piensos AOVE y a los cerdos de montanera (IB-MON). Estos resultados coinciden con los descritos por otros autores al comparar el perfil de ácidos grasos de la grasa subcutánea de cerdos explotados en régimen de montanera y cerdos explotados en intensivo y alimentados con piensos comerciales (Ruiz y cols., 1998; Rey y cols., 2006). Las diferencias en los niveles de AGS y AGMI presentados por el lote IBxD-CON con respecto al resto de lotes, se podrían atribuir a las diferencias en el contenido en estos ácidos grasos en la dieta (25.05 % de AGS y 32.32 % de AGMI para el pienso CON, mientras que el pienso AOVE y las bellotas no superaron el 15% para los AGS y el porcentaje de AGMI fue superior al 60% en ambos casos). Además, como consecuencia de la síntesis endógena de ácidos grasos a partir de los hidratos de carbono de la alimentación

en dietas con bajo contenido graso (2-3% del total), los niveles de AGMI y AGS obtenidos para el lote IBxD-CON se acercaron a los descritos para el resto de lotes.

El contenido en ácido oleico (C18:1 n-9) del tocino dorsal de los lotes de cerdos alimentados con pienso AOVE y del lote de montanera (IB-MON) fue similar, lo que indicaría la efectividad de los piensos enriquecidos con ácido oleico para obtener un perfil de AGMI en tocino dorsal, principalmente de ácido oleico, similar al conseguido mediante una alimentación en montanera basada en el consumo de bellotas. Estudios previos han demostrado la efectividad de la alimentación con piensos enriquecidos con AGMI en el incremento de los niveles de estos ácidos grasos en diferentes músculo y tejidos de cerdo, siguiendo diferentes estrategias como la incorporación a los piensos de girasol alto oleico (Muriel y cols., 2002), aceite de oliva (Nuernberg y cols., 2005) u oleínas de aceite de oliva (Daza y cols., 2005). Además de a la deposición directa en el tocino dorsal de los ácidos grasos de los alimentos, estas diferencias también podrían deberse a la mayor actividad presentada por determinadas enzimas desaturasas (como la Δ^9 desaturasa) descrita en los tejidos de animales alimentados con dietas ricas en AGMI (Chang y cols., 1992). Este hecho explicaría la disminución de las proporciones del ácido esteárico (C18:0) y el incremento de su correspondiente ácido graso insaturado, el ácido oleico (C18.1 n-9), en el tocino dorsal de los lotes AOVE y del lote IB-MON del presente trabajo, lo que apoyaría las teorías propuestas previamente por otros autores (Cava y cols., 1997, Rey y cols., 2006).

Por otra parte, los niveles de AGMI del tocino dorsal de los cerdos Ibéricos puros alimentados con piensos AOVE (lote IB-AOVE) tendieron ($p < 0.1$) a ser superiores a los niveles encontrados en los lotes alimentados con este mismo pienso AOVE pero procedentes de cerdos cruzados (lotes IBxD-AOVE y DxIB-AOVE) mientras que dichos niveles no fueron estadísticamente ($p > 0.05$) diferentes a los obtenidos para el tocino dorsal del lote IB-MON. Aunque se observó esta tendencia en relación a la suma total de AGMI, las diferencias observadas en los porcentajes de ácido oleico (C18:1 n-9) entre el lote de cerdos Ibéricos puros y los correspondientes cruzados de igual alimentación (AOVE), no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$). La mayoría de los estudios realizados acerca del efecto de la genética sobre la composición en ácidos grasos de los lípidos del cerdo Ibérico se han llevado a cabo sobre el perfil de ácidos grasos del músculo, mientras que son escasos los estudios científicos que apoyen los resultados obtenidos en relación al efecto de la genética sobre el perfil de AGMI del tocino dorsal. No obstante, en un estudio realizado por Benito y cols. (2001) se describen mayores porcentajes tanto de ácido oleico

(C18:1 n-9) como de la suma total de AGMI en la grasa subcutánea de cerdos Ibéricos puros con respecto a los niveles obtenidos para cerdos cruzados con Duroc (Ibérico x Duroc, 25% e Ibérico x Duroc, 50%).

Como se ha descrito previamente, los valores obtenidos para la suma de AGMI apuntaron a una posible diferenciación ($p < 0.1$) de los lotes en función de la genética (IB vs cruzados) de los animales, pero no así lotes de igual genética pero diferente alimentación (AOVE vs MON) puesto que no se detectaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en este porcentaje entre los lotes IB-AOVE e IB-MON.

En relación a los niveles obtenidos para la suma total de AGPI y al ácido graso mayoritario de este grupo, el ácido linoleico (C18:2 n-6), el lote IB-MON presentó niveles significativamente inferiores ($p < 0.05$) en comparación con el resto de lotes estudiados. Niveles similares de AGPI y de C18:2 (n-6) fueron encontrados por Ruiz y cols. (1998) y Rey y cols. (2006) en tocino dorsal de cerdos de montanera, y al igual que en el presente estudio, la proporción de éstos fue inferior en las muestras de estos animales que en los de los lotes de cerdos alimentados con piensos. Estos resultados podrían indicar que durante la etapa de cebo en montanera, los animales consumieron principalmente bellotas (con bajos niveles de AGPI), mientras que el consumo de hierba debió ser escaso, ya que la alta proporción de AGPI, sobre todo de ácido linolénico (C18:3 n-3) de la hierba, no se vio reflejada en el perfil de AGPI presentados por el lote IB-MON. Además, aunque los niveles de AGPI fueron superiores en el pienso control (CON) con respecto al pienso AOVE (42.62 % vs 21.62%), esta tendencia no se reflejó en los niveles de estos ácidos grasos en el tocino dorsal, ya que incluso en el caso del AGPI mayoritario, el ácido linoleico (C18:2 n-6), los niveles encontrados en el lote IBxD-CON fueron significativamente ($p < 0.05$) inferiores a los detectados en el lote IBxD-AOVE, con igual genética pero alimentados con el pienso alto oleico. Las diferencias detectadas en los niveles de C18:2 n-6 del tocino dorsal en función de la alimentación recibida por los animales (MON < CON < AOVE) pueden atribuirse a diferencias en el consumo real (en cantidades, no en porcentaje relativo) de este ácido graso. Si se tiene en cuenta el contenido graso medio de la hierba y la bellota (5.13%), del pienso CON (3.55%) y del pienso AOVE (8.29%) así como los porcentajes de ácido linoleico (C18:2 n-6) en cada uno de éstos (15.05%, 39.8% y 20.12% respectivamente) (tabla 1), el consumo en cantidades de ácido linoleico C18:2 n-6 por Kg de alimento sería de 7.67 g Kg^{-1} en el caso de la hierba y las bellotas, de 13.93 g Kg^{-1} para el pienso CON y de 16.49 g Kg^{-1} para el pienso AOVE. Estos valores relativos al consumo de C18:2 n-6 en términos de cantidades reales,

apoyarían los resultados obtenidos, en relación a las diferencias en función de la alimentación para el % de C18:2 n-6 en el tocino dorsal. Además, el ácido linoleico C18:2 n-6 pertenece al grupo de los ácidos grasos esenciales y por tanto su concentración en los depósitos grasos del animal es directamente proporcional a la cantidad consumida a través de la dieta (López Bote, 1998).

Al igual que para los AGMI, la genética de los animales influyó en los valores obtenidos para los porcentajes de la suma total de AGPI, de ácido linoleico (C18:2), de ácido linolénico (C18:3) y de ácido araquidónico (C20:4 n-6), que fueron significativamente ($p < 0.05$) superiores en el tocino dorsal de los cerdos cruzados (IBxD y DxIB) AOVE, en comparación con los valores obtenidos para el tocino dorsal de cerdos Ibéricos puros alimentados con el mismo tipo de pienso (lote IB-AOVE). Estos resultados coinciden en parte con los descritos por Benito y cols. (2001) que describieron mayores niveles de ácido linoleico (C18:2 n-6) en cerdos cruzados Ibérico x Duroc, 50% con respecto a cerdos de raza Ibérica pura.

I.3.2.2. Composición en ácidos grasos de la grasa intramuscular (GIM) del músculo *l.dorsi*

En la tabla 3 se detalla el perfil de ácidos grasos de la fracción de lípidos neutros de la GIM del músculo *l.dorsi* de los cinco lotes estudiados. Los ácidos grasos mayoritarios fueron el ácido palmítico (C16:0) y el ácido oleico (C18:1, n-9), los cuales presentaron diferencias significativas ($p < 0.001$ y $p < 0.05$ respectivamente) entre lotes.

En relación a la suma total de AGMI de la fracción de lípidos neutros, no se observó efecto ni de la alimentación ni de la genética de los animales. Los niveles del AGMI mayoritario, el ácido oleico (C18:1 n-9), se situaron en un 51.54% para el lote IB-MON, entre un 50.68% y un 52.25% para los lotes de pienso AOVE y por último el lote IBxD-CON presentó unos valores de 52.13 %. Los resultados obtenidos para el ácido oleico (C18:1 n-9) reflejaron la alimentación recibida por los animales durante la fase de cebo. De hecho, los niveles detectados de este ácido graso en los lípidos neutros de la GIM de los lotes de animales alimentados con piensos enriquecidos en ácido oleico (AOVE) no difirieron significativamente ($p > 0.05$) de los obtenidos para el músculo *l.dorsi* del lote de cerdos explotados en montanera (IB-MON). Estos resultados coinciden con los descritos previamente por Muriel y cols. (2002), que no encontraron diferencias significativas en los niveles de ácido oleico de los lípidos neutros del músculo *l.dorsi* de cerdos alimentados en intensivo con piensos alto oleico (69.2 % de C18:1, n-9) y de cerdos explotados en montanera. En este sentido, Nuernberg y cols. (2005) también observaron cómo la

alimentación de cerdos con piensos enriquecidos con aceite de oliva (con un 75.5% de C18:1, n-9) incrementaban los niveles de este ácido oleico en los lípidos totales del músculo *l.dorsi* y del tocino dorsal.

No se detectaron tampoco diferencias significativas para el ácido oleico (C18:1 n-9) entre los lotes IBxD-CON e IBxD-AOVE, de igual genética pero diferente alimentación. Además los valores de este ácido graso presentados por el músculo *l.dorsi* de cerdos alimentados con el pienso control (CON) fueron elevados en comparación con los obtenidos en estudios previos en diferentes tejidos y músculos de cerdos Ibéricos alimentados con piensos comerciales con similares características químicas y composición en ácidos grasos al pienso control (tabla 1) (Cava y cols., 1997; Ruiz y cols., 1998; Andrés y cols., 2001; Tejeda y cols. 2002). Además de la alimentación recibida por los animales, puede que otros factores hayan contribuido a elevar los niveles de ácido oleico (C18:1 n-9) en el lote IBxD-CON. Así, podría tener que ver con la síntesis endógena de este ácido graso a partir del ácido esteárico (C18:0) por intervención de la enzima Δ^9 desaturasa. Los mecanismos que regulan la síntesis endógena de ácidos grasos insaturados a partir de ácidos grasos saturados son muy variados, incluyéndose los de tipo metabólico o alimentario que actúan estimulando o inhibiendo la actividad de las enzimas desaturasas.

En relación al efecto de la genética, únicamente se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los valores de ácido oleico (C18:1 n-9) entre los lotes IBxD-AOVE y IB-AOVE, aunque estas diferencias no se reflejaron en la suma total de AGMI. Sin embargo, el porcentaje en ácido palmítoleico (C16:1) presentó diferencias significativas entre los lotes AOVE: el lote IB-AOVE presentó unos niveles significativamente ($p < 0.05$) superiores a los de los cerdos cruzados AOVE (lotes IBxD-AOVE y lote DxIB-AOVE), coincidiendo con los resultados descritos por Benito y col. (2001) en la grasa de lomo fresco en cerdos Ibéricos puros y cruzados con Duroc, 50%. Estos resultados podrían atribuirse a una mayor actividad lipogénica derivada hacia la síntesis de ácidos grasos monoinsaturados de la raza ibérica respecto a la raza Duroc. En concreto a una mayor actividad de la enzima Δ^9 desaturasa implicada en las reacciones de transformación del ácido palmítico (C16:0) en palmitoleico (C16:1).

El perfil de la suma total de AGS y AGPI de la fracción de lípidos neutros, siguiendo una tendencia similar a la presentada por la suma total de AGMI, no reflejó el perfil de ácidos grasos de la dieta, aunque si se presentaron diferencias significativas ($p < 0.01$) entre los 5 lotes estudiados.

No se observó influencia de la alimentación en el perfil de AGS de los lípidos neutros, puesto que no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre lotes de igual genética y diferente alimentación (IBxD-CON vs IBxD-AOVE y IB-AOVE vs IB-MON) para los porcentajes obtenidos de los AGS mayoritarios, C16:0 y C18:0 y en consecuencia para la suma total de los AGS. Sin embargo, de los AGS, el ácido graso mayoritario, el ácido palmítico (C16:0), presentó unos niveles significativamente ($p < 0.05$) superiores en el lote IB-AOVE (26.37%) con respecto al resto de lotes AOVE (24.09% y 25.02%) y al lote IBxD-CON (24.73%); no obstante dichas diferencias no fueron estadísticamente significativas con el lote IB-MON (25.73%). Estos resultados, apoyarían el mayor carácter adipogénico de la raza Ibérica respecto a la Duroc ya que el origen predominante del ácido palmítico es la síntesis endógena.

Finalmente, los niveles de la suma total de AGPI, así como los de los ácidos grasos más representativos de este grupo, el ácido linoleico (C18:2 n-6), el ácido linolénico (C18:3 n-3) y el ácido araquidónico (C20:4 n-6) fueron significativamente ($p < 0.05$) más elevados en el lote IBxD-AOVE que en el resto de lotes. Como consecuencia, este lote presentó los niveles más elevados de la suma total de n-3 y n-6 en comparación con el resto de lotes. Se observó un cierto efecto de la alimentación en los resultados obtenidos para la suma de AGPI, como consecuencia principalmente del significativo menor porcentaje de C18:2 n-6 obtenido para el lote IBxD-CON con respecto al lote IBxD-AOVE, de igual genética pero diferente alimentación (pienso CON vs AOVE). Tal y como se describió para la grasa subcutánea, esto podría ser debido a diferencias en las cantidades reales que se estima consumieron los animales de este ácido graso a través de los piensos teniendo en cuenta su diferente contenido graso que fueron de 13.93 g Kg^{-1} para el pienso CON y de 16.49 g Kg^{-1} para el pienso AOVE.

En la tabla 4 se presenta el perfil de ácidos grasos de la fracción de lípidos polares de la grasa intramuscular del músculo *l.dorsi* de los cinco lotes estudiados. La alimentación recibida por los animales presentó una clara influencia en el perfil de AGMI y AGPI de la fracción de lípidos polares de la GIM del músculo *l.dorsi*.

Los niveles encontrados tanto de la suma total de AGMI como de ácido oleico (C18:1, n-9), fueron significativamente ($p < 0.05$) mayores en el lote IBxD-AOVE con respecto al lote IBxD-CON y en el lote IB-AOVE con respecto al lote IB-MON. Estos resultados reflejarían el perfil de ácidos grasos de la dieta de los animales, así como la efectividad de los piensos AOVE para elevar los niveles de AGMI y del ácido oleico en los lípidos polares del músculo *l.dorsi* incluso a niveles superiores a los obtenidos en músculo de

animales de montanera (IB-MON). Muriel y cols. (2002) observaron el mismo efecto para los AGMI y el ácido oleico (C18:1 n-9) en el músculo *l.dorsi* de cerdos de montanera y piensos alto oleico. La suplementación de los piensos AOVE con niveles elevados (250 ppm) de α -tocoferol pudo igualmente contribuir a incrementar los niveles de ácido oleico (C18:1 n-9) en el músculo de los cerdos alimentados con estos piensos. De hecho, Rey y cols. (2004) encontraron mayores niveles de C18:1 n-9 en cerdos suplementados con 200 ppm de α -tocoferol en el pienso en comparación con 10 ppm de α -tocopherol. En este sentido, algunos autores atribuyen un posible efecto del α -tocoferol sobre la actividad de la enzima Δ^9 desaturasa (Okayasu y cols. 1977). Sin embargo, otros no han encontrado efecto de la suplementación con α -tocoferol sobre la composición en ácidos grasos del músculo (Monahan y cols., 1992; López-Bote y cols., 1997).

En el caso de los AGPI, incluyendo los ácidos mayoritarios linoleico (C18:2 n-6) y araquidónico (C20:4 n-6), destaca el significativo ($p < 0.05$) menor porcentaje (35.35%) obtenido para el lote IB-MON con respecto al resto de lotes (superior al 48% en todos los casos). Además, coincidiendo con el perfil en AGPI descrito para los piensos CON y AOVE (tabla 1), el lote IBxD-CON presentó significativamente ($p < 0.05$) mayores niveles de AGPI (54.10%) incluido el ácido linoleico (C18:2 n-6) (37.50%) que el lote de igual genética pero de alimentación con piensos AOVE (IBxD-AOVE) (49.02% de AGPI y 19.03% de ácido linoleico). Los resultados descritos para el lote de montanera, podrían deberse por una parte al menor consumo real estimado de C18:2 n-6, y en consecuencia a una menor deposición en los fosfolípidos de membrana de los cerdos de montanera. Este menor consumo sería consecuencia de las diferencias en el contenido graso y en la proporción de AGPI de las bellotas y la hierba en comparación con la de los piensos AOVE y CON como se describió para la grasa subcutánea. Por otra parte, López Bote y cols. (1997) y Rey y cols. (2004) describieron cómo dietas enriquecidas en ácidos grasos n-9 tiende a elevar los niveles de ácido linolénico (C18:3, n-3) y a descender los de ácido linoleico (C18:2, n-6) en la fracción de lípidos polares del músculo, lo que ha sido atribuido a la competición metabólica de los AGPI n-3 y n-6 por posicionarse en los fosfolípidos de membrana. Esta teoría podría explicar en parte, los menores niveles de C18:2 n-6 encontrados en los lípidos polares del músculo *l.dorsi* de cerdos alimentados durante la fase de cebo con una fuentes rica en ácidos grasos n-9 como los piensos AOVE o las bellotas. La utilización de los piensos AOVE elevó los niveles de AGMI de la fracción de los lípidos polares superando incluso los valores alcanzados por el lote de

montanera, pero manteniendo unos niveles de AGPI inferiores a los obtenidos para el lote IBxD-CON. En estudios previos llevados a cabo en diferentes músculos, se han descrito diferentes comportamientos de los AGPI con respecto a la alimentación recibida por los animales. Andrés y cols. (2001) encontraron mayores niveles de C18:2 n-6 y del total de AGPI en los lípidos polares tanto del músculo *biceps femoris* como del *masseter* en cerdos Ibéricos explotados en intensivo con piensos comerciales que en cerdos Ibéricos de montanera. Por el contrario, Muriel y cols. (2002) describieron menores niveles de C18:2 n-6 en el músculo *masseter* de cerdos de montanera con respecto a cerdos alimentados con piensos alto oleico, mientras que para el músculo *l.dorsi* no encontraron diferencias.

El lote IB-MON presentó valores de la suma total de AGS significativamente ($p < 0.05$) superiores al resto de los lotes incluido el lote IB-AOVE (de igual genética y diferente alimentación), debido principalmente a los porcentajes presentados por los dos AGS mayoritarios, el C16:0 y el C18:0, que también fueron significativamente ($p < 0.05$) superiores en el lote de montanera. Estos resultados coinciden con los descritos por Cava y cols. (1997) y Andrés y cols. (2001), que encontraron niveles de AGS mayores en el músculo *masseter* y *tibialis cranialis* respectivamente de cerdos de montanera en comparación con cerdos criados en intensivo y alimentados con piensos. Por el contrario, Muriel y cols.(2002) no describieron efecto de la alimentación (montanera vs cerdos en intensivo alimentados con piensos alto oleico) en los niveles de AGS de la fracción de lípidos polares de la GIM del músculo *l.dorsi* de cerdos Ibéricos. Daza y cols. (2005) atribuyen el alto contenido en AGS en los fosfolípidos de membrana del *l.dorsi* de cerdos explotados en extensivo con hierba y bellotas, a la necesidad de las membranas celulares de mantener su estructura en presencia de grandes cantidades de AGPI (con menores punto de fusión lo que repercute en una menor estabilidad estructural de las membranas celulares). No obstante, en nuestro caso, los niveles de AGPI en el lote IB-MON fueron inferiores al del resto de lotes.

La genética no pareció influir en el perfil de ácidos grasos de los lípidos polares, puesto que los porcentajes tanto de los sumatorios como de los ácidos grasos individualizados mayoritarios presentaron escasas diferencias entre los lotes de cerdos de raza Ibérica pura (IB-AOVE) y los cruzados de la misma alimentación (lotes IBxD-AOVE y DxIB-AOVE). La fracción de lípidos polares reflejó en mayor medida el perfil de ácidos grasos de la dieta, sobre todo en relación a los AGMI y AGPI, en comparación con la fracción de lípidos neutros, coincidiendo con los resultados descritos previamente por otros autores (Cava y cols., 1997; Ruiz y cols. 1998; Andrés y cols. 2001; Daza y cols., 2005). Estos

resultados podrían deberse a que los triglicéridos y los fosfolípidos presentan diferencias en la vida media y tasas de renovación (Hellerstein y cols., 1993). Los primeros presentan una vida media mucho más larga que los fosfolípidos, estimada en 180 días (Cunningham, 1968) y por tanto más larga que el periodo de cebo de los animales del presente estudio (60 días). Modificaciones de la composición en ácidos grasos realizadas durante el periodo de cebo se reflejarán por tanto de una forma más limitada en la composición en ácidos grasos de los triglicéridos que en la de los fosfolípidos.

En la tabla 5 se presenta los resultados correspondientes al perfil de ácidos grasos de la fracción de ácidos grasos libres de la GIM del músculo *l.dorsi* de los 5 lotes en estudio.

Individualmente, el ácido oleico (C18:1, n-9) fue el ácido graso mayoritario en los lotes de cerdos Ibéricos puros (IB-AOVE e IB-MON), mientras que en el resto de lotes de cerdos cruzados (IBxD-CON, IBxD-AOVE y DxIB-AOVE) el ácido palmitito (C.16:0) es el que se presentó en mayores porcentajes.

Del análisis del perfil de ácidos grasos de la fracción de los AGL se desprende que el lote IB-MON presentó un perfil sustancialmente diferente al del resto de los lotes estudiados. Mientras que para este lote el mayor porcentaje se obtuvo para la suma total de AGPI (38.41%) debido principalmente a la contribución del C18:2 n-6 (25.01%) y del C20:4 n-6 (8.83%), el resto de los lotes estudiados presentaron niveles muy superiores de la suma total de AGS (entre un 51.38% para el lote IB-AOVE y un 57.05% para el lote DxIB-AOVE) respecto a la suma total de AGMI y AGPI.

En el tejido muscular los fosfolípidos de membrana parecen ser los principales sustratos de las enzimas lipolíticas y por tanto el origen de los ácidos grasos libres (Gandermer, 2002), aunque la contribución de los lípidos neutros también debe ser tenida en cuenta (Alasnier y cols., 2000; Muriel y cols., 2004). En la carne fresca, los procesos de lipólisis son escasos, por lo que la fracción de AGL es cuantitativamente poco importante comparada con las fracciones de lípidos polares y neutros. Sin embargo, durante el almacenamiento a refrigeración o durante los procesos madurativos cobra mayor importancia.

Los resultados descritos para el perfil de ácidos grasos de la grasa subcutánea y de la GIM del músculo *l.dorsi* de los lotes estudiados, pusieron de manifiesto que la composición en ácidos grasos de la grasa subcutánea reflejó en mayor medida la composición en ácidos grasos de los alimentos suministrados a los animales durante la fase de cebo que la de la GIM, coincidiendo con las observaciones realizadas previamente por otros autores (Warnants y cols., 1996; Leskanich et al., 1997). De las tres fracciones estudiadas de la GIM del músculo *l.dorsi*, la fracción de lípidos polares es la que presentó una mayor

influencia de la alimentación, mientras que la composición en ácidos grasos de la fracción de AGL estuvo determinada en mayor medida por la genética de los animales.

I.3.3. Contenido en GIM del músculo *l.dorsi*

En la figura 1 se presentan los resultados relativos al contenido en grasa intramuscular (GIM) del músculo *l.dorsi* de los 5 lotes estudiados tanto en fresco como en extracto seco. Se observó un efecto de la genética en el contenido en GIM del músculo *l.dorsi*, puesto que los lotes de cerdos Ibéricos puros (lotes IB-AOVE y IB-MON) presentaron mayores niveles que los encontrados en el resto de lotes, todos ellos procedentes de cerdos cruzados (IBxD-CON, IBxD-AOVE y DxIB-AOVE), aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$) con el lote IBxD-AOVE. El contenido en GIM obtenido presentó un rango desde el 2.53% (8.13% en e.s.) para el lote DxIB-AOVE hasta el 4.18% (13.24% en e.s. del lote IB-MON). En estudios previos realizados por otros autores en este mismo músculo en cerdos Ibéricos o cruzados, los valores obtenidos de GIM fueron ligeramente superiores a los encontrados en el presente trabajo, principalmente para los lotes cruzados. Así Muriel y cols. (2004), encontraron porcentajes entre el 3.6% y el 5.1% en *l.dorsi* de cerdos Ibéricos de diferentes líneas explotados en régimen de montanera, los cuales sí presentan unos valores similares a los descritos para el lote de IB-MON en el presente estudio. No obstante, Morcuende (2005) estableció valores de GIM del 4.11% para el músculo *l.dorsi* de cerdos cruzados IBxD de madre Duroc y del 4.29% en aquellos casos en los que la madre era de raza Ibérica en pureza. El mayor contenido en GIM de la raza Ibérica en relación a otras razas comerciales como Duroc, es una de sus características diferenciales atribuida al metabolismo adipogénico de esta raza (López Bote, 1998). En estudios previos donde se comparaba la actividad de determinados enzimas lipogénicas (glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa y el enzima málico) entre la raza Ibérica y otras razas porcinas como la raza Landrace (Morales y cols., 2002) y la raza Large-White (Freire y cols., 1998) pusieron de manifiesto la mayor actividad de estas enzimas en los músculos de cerdos Ibéricos lo que conllevaría una tasa más elevada de síntesis lipídica y en consecuencia del contenido en grasa en el músculo de cerdos de raza Ibérica. Además en un estudio llevado a cabo con muestras procedentes de los mismos lotes empleados en esta Tesis, se comprobó como los cerdos de raza Ibérica pura presentaban un mismo genotipo para la mutación del factor IGF2 relacionado con la deposición grasa, y además era diferente del presentado por los cerdos cruzados con Duroc (Carrodeguas y cols., 2005).

En lo referente a la línea materna, Morcuende (2005) no encontró influencia de la genética (cerdos cruzados de madre Duroc vs madre Ibérica) en la actividad de las enzimas lipogénicas descritas en los diferentes músculos estudiados, aunque este autor tampoco encontró diferencias entre ambas genéticas en los parámetros relacionados con el nivel de engrasamiento de la canal ni en el contenido en GIM. Estos resultados coinciden con los descritos en el presente trabajo donde tampoco se detectó efecto del tipo de cruce (IBxD-AOVE vs DxIB-AOVE) sobre el contenido en GIM.

La alimentación recibida por los animales no influyó en el contenido en GIM, puesto que no se detectaron diferencias entre lotes de igual genética y diferente alimentación (IB-AOVE vs IB-MON y IBxD-AOVE vs IBxD-CON). Estos resultados no coinciden con los descritos previamente por otros autores que si encontraron diferencias en el contenido lipídico de músculos de cerdos de montanera en comparación con cerdos cebados en intensivo con piensos (Cava y cols., 1997; Tejeda y cols., 2002). La mayor deposición de tejido adiposo de los cerdos en montanera se atribuye al consumo de las bellotas, con un elevado contenido energético consecuencia de los altos niveles de S.E.L.N. y de lípidos en comparación con los piensos. Sin embargo, en el presente trabajo como consecuencia de la presencia del girasol alto oleico el contenido energético de los piensos AOVE es similar al de la bellota (con niveles de contenido graso muy parecido), de ahí que probablemente la alimentación en montanera no haya presentado diferencias para el contenido en GIM respecto a la alimentación con piensos AOVE de cerdos de raza Ibérica pura. Además el hecho de que los piensos CON y AOVE se formularan para que presentaran la misma energía, podría explicar la falta de diferencias en el contenido en GIM entre los lotes IBxD-CON e IBxD-AOVE, de igual genética pero diferente alimentación.

El alto contenido en GIM de la raza Ibérica es importante desde diferentes puntos de vista, por una parte desde el punto de vista tecnológico, puesto que determina, entre otros factores, el ritmo de deshidratación de las piezas durante el procesado de las mismas. Por otro lado, influye de forma decisiva en la calidad sensorial del producto final al presentar altas correlaciones con atributos sensoriales de gran importancia en la preferencia mostrada por los consumidores por este tipo de productos, como son el flavor, la jugosidad o el grado de vetado (Ruiz y cols., 2000; Ventanas y cols., 2005).

I.3.4. Contenido en neofitadieno

En la tabla 2 se presentan los resultados relativos al contenido en neofitadieno obtenidos en muestras de grasa subcutánea para cada uno de los lotes en estudio.

De los hidrocarburos ramificados detectados e identificados en la fracción insaponificable de los lípidos de carne y productos cárnicos derivados del cerdo Ibérico, el neofitadieno (3-metilen-7,11,15-trimetilhexadecen-1-eno) únicamente se ha detectado en muestras de músculo (Tejeda y cols., 2001) y jamón curado (Petrón y cols., 2005) de cerdos Ibéricos explotados en régimen de montanera durante la fase de cebo y no en los criados en intensivo con piensos comerciales, como consecuencia de la abundancia de este compuesto en la hierba (Lintas y cols., 1979). De ahí que se haya propuesto como posible marcador de la alimentación en montanera. En el presente trabajo, este compuesto se detectó exclusivamente en las muestras de grasa subcutánea procedentes del lote IB-MON (tabla 2), es decir en los cerdos explotados en extensivo en régimen de montanera, mientras que en los lotes AOVE y CON los niveles se mantuvieron por debajo del umbral de detección. Estos resultados confirman la utilidad de este compuesto como marcador de la alimentación en montanera en la que los animales consumen este compuesto a través de la ingesta de hierba, y posteriormente se acumula en sus depósitos grasos (Tejeda y cols., 2001).

I.3.5. Contenido en α - y γ -tocoferol en músculo *l. dorsi*.

En la figura 2 se muestran los resultados correspondientes al contenido en α - y γ -tocoferol detectados en el músculo *l.dorsi* de los 5 lotes estudiados. En relación al contenido en α -tocoferol, la alimentación recibida por los animales influyó significativamente ($p < 0.001$) en los niveles detectados en el músculo *l.dorsi*. Los tres lotes AOVE, independientemente de la genética de los animales, presentaron niveles de α -tocoferol ($2.94 \mu\text{g g}^{-1}$ para el lote IBxD-AOVE, $3.11 \mu\text{g g}^{-1}$ para el lote IB-AOVE y $2.91 \mu\text{g g}^{-1}$ para el lote DxIB-AOVE) significativamente ($p < 0.05$) más elevados a los detectados en el lote de montanera (IB-MON) ($1.91 \mu\text{g g}^{-1}$) y en el lote control (IBxD-CON) ($1.38 \mu\text{g g}^{-1}$), como consecuencia de la suplementación de los piensos AOVE con 250 ppm de α -tocoferol. Un gran número de estudios anteriores han demostrado que la deposición del α -tocoferol en el músculo presenta una alta correlación con la concentración del mismo en la dieta y es además diferente en función del tipo de músculo (O'Sullivan y cols., 1997; Lo Fiego y cols., 2004; Daza y cols., 2005; Mason y cols., 2005). En este sentido, en músculos oxidativos, como el músculo *Psoas major* en el cerdo, la capacidad de almacenar α -tocoferol es mayor que en músculos como el *l.dorsi*, al presentar mayor cantidad de fibras oxidativas con un elevado número de mitocondrias y por consiguiente de membranas donde se localiza el α -tocoferol (Lauridsen y cols., 2000). El aporte de α -tocoferol como consecuencia del consumo de

hierba, que presentaría altos niveles de este compuesto (López Bote y col., 2001; Lynch y cols., 2001), explicaría su presencia en el músculo *l.dorsi* de los cerdos explotados en montanera (lote IB-MON). Sin embargo, otros autores han encontrado mayores niveles de α -tocoferol en músculos de cerdos Ibéricos de montanera que en músculos de cerdos alimentados con piensos suplementados con niveles de α -tocoferol de hasta 200 ppm (Cava y cols., 2000; Daza y cols., 2005), contrariamente a lo descrito en el presente trabajo. Estos resultados podrían deberse a que la ingesta de hierba por parte de los cerdos durante el periodo de cebo en montanera es muy variable, dependiendo en gran medida de las condiciones climáticas que condicionarían los niveles de hierba disponible para los animales. Además, la hierba consumida por los animales incluye una gran variedad de especies con un contenido en α -tocoferol variable (Lynch y cols., 2001).

Los resultados obtenidos para el γ -tocoferol (Figura 5) indican una clara influencia de la alimentación en montanera sobre el contenido de este compuesto en el músculo *l.dorsi*, puesto que el lote IB-MON presentó valores de γ -tocoferol ($0.61 \mu\text{g g}^{-1}$) significativamente ($p < 0.05$) superiores de γ -tocoferol que el resto de lotes, todos ellos procedentes de cerdos explotados en intensivo y alimentados con piensos CON o AOVE (valores inferiores a $0.08 \mu\text{g g}^{-1}$). Daza y cols. (2005) y Rey y cols. (2006) también encontraron niveles superiores de γ -tocoferol en músculo *l.dorsi* de cerdos de montanera en comparación con cerdos explotados en intensivo con piensos comerciales, lo que atribuyeron a la presencia de altos niveles de γ -tocoferol en las bellotas consumidas por los animales durante la fase de cebo.

De los dos isómeros de tocoferol estudiados, el γ -tocoferol fue el que permitió diferenciar claramente los lotes procedentes de cerdos criados en montanera, al ser detectado en muy bajas cantidades en los lotes de pienso incluidos los suplementados con α -tocoferol. Por tanto coincidiendo con los resultados descritos previamente por otros autores sería un buen marcador de la alimentación en montanera.

Por último, añadir que como era esperable la genética de los animales no influyó en el contenido en α - y γ -tocoferol del músculo *l. dorsi*.

I.3.6. Velocidad de ultrasonidos a diferentes temperaturas (tocino dorsal)

En la tabla 5 se presentan los resultados correspondientes a las medidas de velocidad de ultrasonidos (m/s) realizadas sobre muestras de tocino dorsal de los lotes IBxD-CON, IBxD-AOVE, IB-AOVE, DxIB-AOVE e IB-MON en un rango de temperaturas de 0°C a 22°C , así como distintos cocientes que relacionan la velocidad de ultrasonidos a diferentes temperaturas. La evolución de la velocidad media de ultrasonidos para cada lote en el

rango de temperaturas estudiada se presenta en la figura 3. Por último, en la figura 4 se presenta un diagrama de barras correspondientes al promedio para cada uno de los lotes de las medidas de ultrasonidos realizadas a todas las temperaturas estudiadas.

La velocidad de los ultrasonidos descendió en todos los lotes estudiados (tabla 5 y figura 3) conforme la temperatura de las muestras a las que se realizaban las medidas era más elevada, a excepción del lote IBxD-AOVE que a 8°C presentó un pequeño incremento de la velocidad de ultrasonidos. Al incrementar la temperatura aumenta la proporción de grasa en estado líquido, como resultado de la fusión de la misma, lo que origina un descenso en la velocidad de los ultrasonidos, puesto que su transmisión es más lenta en un medio líquido que en un medio sólido (McClements, 1997). En la curva de temperatura de la figura 3 se pueden observar tres partes diferenciadas, una primera parte hasta los 5°C (a), una segunda hasta los 10°C (b) y una tercera desde los 10°C hasta los 22°C (c), con dos puntos de inflexión en torno a los 5°C y en torno a los 10-11°C. Estos puntos de inflexión coincidirían con las temperaturas de máxima fusión de la grasa del tocino dorsal, de acuerdo con los resultados observados en las curvas de temperatura obtenidas en otros productos (Miles y cols., 1985; Benedito y cols., 2000; Benedito y cols., 2001). En concreto el ácido graso mayoritario, el ácido oleico, presenta un punto de fusión en torno a 13.4°C (Wood y cols., 2003), lo que explicaría la aparición del segundo punto de inflexión observado y la disminución en la velocidad de los ultrasonidos como consecuencia del incremento de la proporción de grasa líquida. El descenso (pendiente de la curva) en la velocidad de ultrasonidos es más acusado en la parte inicial de la curva (hasta los 5°C) y se hace menos brusco a medida que se incrementa la temperatura. A medida que aumenta la temperatura como consecuencia de la fusión de la grasa la proporción de grasa en estado líquido predomina en relación a la grasa sólida, llegando a niveles en los que las variaciones en la proporción líquido/sólido no son tan acusadas y por tanto las variaciones en la velocidad de los ultrasonidos se hacen menos marcadas.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.01$) de las medidas de ultrasonidos entre los lotes estudiados a todas las temperaturas (tabla 4). De estos resultados destaca, la velocidad de ultrasonidos obtenida para las muestras de tocino dorsal de cerdos criados en intensivo y alimentados con el pienso control (IBxD-CON) que fueron significativamente superiores ($p < 0.05$) a las obtenidas para cualquiera de los otros lotes estudiados a 6°C, 10°C, 12 °C y 20°C. Además, los resultados presentados en la figura 4 muestran como el promedio de la velocidad de ultrasonidos para este lote a todas las temperaturas estudiadas fue también significativamente ($p < 0.05$) superior al del resto de

los lotes. En cuanto a las medidas realizadas en los lotes AOVE, los tres lotes presentaron una evolución similar a lo largo del rango de temperaturas como puede observarse en la figura 2 (curva de temperatura). Dentro de los animales incluidos en los lotes AOVE, la velocidad de ultrasonidos en las muestras de tocino dorsal de cerdos Ibéricos puros (IB-AOVE) presentó unos valores inferiores a los de los lotes de cerdos cruzados (IBxD-AOVE, DxIB-AOVE), aunque las diferencias únicamente fueron estadísticamente significativas a 2 y a 8°C (tabla 4).

Por otra parte, el lote IB-MON presentó una evolución de la velocidad de ultrasonidos en función de la temperatura ligeramente diferente, puesto que a partir de los 12°C se observó un descenso menos marcado que en el resto de los lotes, lo que supuso que a los 20°C la velocidad superara incluso los valores alcanzados por los 3 lotes AOVE. No obstante, como se observa en la figura 3, el valor medio de la velocidad de ultrasonidos para este lote fue muy similar al obtenido para el lote IB-AOVE, también de cerdos Ibéricos puros, al resto de los lotes AOVE, de cerdos cruzados (IBxD-AOVE y DxIB-AOVE) y significativamente ($p < 0.05$) inferior al del lote IBxD-CON, de cerdos alimentados con el pienso control. Por tanto, las medidas de las velocidades de ultrasonidos, principalmente las comprendidas entre 10 y 20°C, permitieron diferenciar al lote procedente de cerdos criados en intensivo con el pienso control (IBxD-CON) del resto de lotes estudiados.

Las diferencias encontradas en la velocidad de transmisión de ultrasonidos entre los lotes estudiados pueden explicarse por los distintos grados de fluidez de la grasa, que como ya se ha descrito, influye directamente en la velocidad de los ultrasonidos. A su vez, los distintos grados de fluidez de la grasa pueden ser atribuidos a las diferencias existentes en la composición en ácidos grasos del tocino dorsal. La mayor proporción en AGS (tabla 1) presentes en el tocino dorsal del lote IBxD-CON en comparación con el resto de lotes, determinaría una mayor consistencia de la grasa ya que el punto de fusión para los ácidos grasos saturados es elevado (70°C para el C18:0). Por tanto, a las temperaturas estudiadas (de 0 a 22°C) los ultrasonidos se desplazarían a mayor velocidad en la grasa de los animales del lote IBxD-CON, por ser ésta menos fluida. En el caso del cerdo Ibérico, los ácidos grasos que se han correlacionado con la consistencia de la grasa han sido el ácido esteárico (C18:0; positivamente) y el ácido oleico (C18:1 n-9, negativamente), al ser los mayoritarios (Flores y col., 1988). En este sentido cuanto mayor sea el ratio C18:0/C18:1, mayor consistencia presentaría la grasa y teóricamente la velocidad de ultrasonidos sería mayor. En las muestras de tocino dorsal analizadas los cocientes calculados de C18:0/C18:1 para cada uno de los lotes fueron: 0.25 (lote IBxD-CON), 0.21 (Lote IB-

MON) y 0.19 (para los tres lotes AOVE). Estos resultados confirmarían la mayor consistencia de la grasa en el Lote IB-CON, a las temperaturas a las que se realizaron las medidas de ultrasonidos, lo que explica los resultados de velocidad de ultrasonidos obtenidos para este lote. Además, los cocientes C18:0/C18:1 tanto del lote IB-MON como de los tres lotes AOVE incluido el lote IB-AOVE fueron muy similares, lo que podría explicar que no se encontraran diferencias para la velocidad de los ultrasonidos entre los lotes de cerdos de raza Ibérica pura pero explotados en montanera (IB-MON) y los de cerdos igualmente de raza ibérica pura pero cebados con piensos AOVE (IB-AOVE). Sin embargo, como se describió con anterioridad, el lote IB-MON presentó un comportamiento diferente al resto de lotes (Figura 2). En este sentido, los siguientes cocientes calculados: a partir de las medidas de la velocidad de ultrasonidos a diferentes temperaturas: $v(10^{\circ}\text{C})/v(22^{\circ}\text{C})$, $v(12^{\circ}\text{C})/v(22^{\circ}\text{C})$ y $v(12^{\circ}\text{C})/v(20^{\circ}\text{C})$ (tabla 4), permitieron diferenciar el lote IB-MON del resto de lotes al presentar unos valores significativamente ($p < 0.05$) inferiores para estos cocientes en comparación tanto con el lote IBxD-CON como con los lotes AOVE.

I.3.7. Estudio comparativo de los métodos de clasificación descritos para diferenciar la materia prima en función de la genética y la alimentación.

En la figura 4 se muestra la distribución de los diferentes lotes estudiados teniendo en cuenta los porcentajes obtenidos para los cuatro ácidos grasos de la grasa subcutánea (palmítico, esteárico, oleico y linoleico) empleados por la Norma de Calidad (B.O.E., 2001) para la clasificación de la materia prima en los diferentes grupos de alimentación. En la figura se ha resaltado en el cuadrante inferior derecha, aquellos individuos que en función de los resultados obtenidos entrarían en el grupo de alimentación de “bellota” establecido para la campaña 2004/2005 (Convenio MAPA-ASICI): C16:0 menor o igual a 21.7%, C18:0 menor o igual a 10.1%, C18:1 mayor o igual a 53.5% (valor máximo admitido en este grupo 58%) y C18:2 menor o igual a 10.0%.

Como puede observarse en los gráficos presentados (figura 4), los individuos pertenecientes al lote IBxD-CON se diferenciaron claramente del resto de lotes en función del perfil que presentaron para estos 4 ácidos grasos, mientras que los individuos de los tres lotes AOVE y del lote de montanera (IB-MON) no se separaron en función de los ácidos grasos considerados. Por otra parte los individuos que se clasificarían en el grupo de alimentación “de bellota” en función de las directrices establecidas por la Norma de calidad, pertenecerían exclusivamente a los lotes AOVE y al lote IB-MON. Por tanto, aunque la clasificación basada en la composición de los cuatro ácidos grasos mayoritarios

de la grasa subcutánea permitió distinguir a los animales en función de la alimentación recibida, esta distinción se limita a aquellos individuos alimentados en la fase de cebo con piensos comerciales (piensos CON), mientras que los individuos alimentados con piensos enriquecidos con girasol alto oleico (AOVE) no pudieron diferenciarse de los de montanera mediante este método de clasificación. Además de los resultados obtenidos se confirmaría el hecho de que con esta metodología analítica cabe la posibilidad de obtener tanto falsos positivos (clasificar como de bellota individuos que no lo son pertenecientes a los lotes AOVE) como falsos negativos (dejando fuera del grupo de bellota individuos que si son de montanera pertenecientes al lote IB-MON).

Al igual que lo descrito con el perfil en ácidos grasos de la grasa subcutánea, la composición en ácidos grasos de la GIM del músculo *l.dorsi*, no parece ser un método de análisis adecuado para diferenciar la materia prima en función de la alimentación o la genética de los animales. Únicamente el perfil presentado por los lípidos polares, principalmente en lo relacionado con los AGMI permitió establecer diferencias entre los lotes en función de la alimentación. Sin embargo, tanto el contenido en neofitadieno como en tocoferol (α - y γ -) se confirmaron como métodos que lograron dar un paso más en la clasificación de la materia prima en relación al método oficial. El neofitadieno se confirmaría como un excelente marcador de la alimentación en montanera, al igual que el γ -tocopherol, mientras que el α -tocopherol sería un excelente marcador de la presencia de este compuesto en la alimentación de los animales ya sea como consecuencia de la suplementación de los piensos (AOVE) o de su presencia en la hierba consumida por los animales durante la fase de cebo.

En relación a la genética, el contenido en GIM fue el parámetro estudiado que permitió diferenciar de una forma más clara los lotes procedentes de cerdos Ibéricos puros (IB) de los lotes de cerdos cruzados (IBxD y DxIB).

Finalmente, la medida de la velocidad de ultrasonidos realizada sobre la grasa subcutánea, en la medida en la que la velocidad depende de la composición en ácidos grasos de la grasa, permitió diferenciar de una manera clara el lote de cerdos alimentados con el pienso CON del resto de lotes. Además se observó que el lote de cerdos de montanera presentó un comportamiento diferente al resto de lotes. Aunque no se pudo confirmar estadísticamente, se observaron diferencias en la velocidad de los ultrasonidos en función de la genética de los animales (Ibéricos puros vs cruzados). La ventaja de la utilización de este método respecto a la analítica en ácidos grasos radicaría en la mayor rapidez en la

obtención de resultados y en que es una técnica no destructiva con las muestras empleadas durante el análisis.

I.4. CONCLUSIONES

La composición en ácidos grasos de la grasa subcutánea refleja en mayor medida la alimentación recibida por los animales durante la fase de cebo, que el perfil en ácidos grasos de cualquiera de las tres fracciones de la grasa intramuscular del músculo *l.dorsi*.

El perfil de ácidos grasos del tejido adiposo permite diferenciar una alimentación con piensos comerciales tanto de la alimentación con piensos alto oleico y suplementados con α -tocoferol como de la alimentación en montanera. Sin embargo, presenta ciertas limitaciones como método de clasificación puesto que no permite establecer diferencias entre la materia prima procedente de cerdos explotados en intensivo con piensos alto oleico de aquella procedente de cerdos explotados en régimen de montanera.

El contenido en GIM del músculo *l. dorsi* permite establecer diferencias entre los lotes estudiados en función de la genética de los animales (Ibéricos puros frente a cruzados de Ibérico x Duroc, 50%, tanto de madre Ibérica como de madre Duroc), lo que confirma la mayor capacidad adipogénica de la raza Ibérica pura.

La utilización de otros métodos analíticos como son la presencia del hidrocarburo ramificado neofitadieno en la grasa subcutánea y del γ -tocoferol en el músculo *l. dorsi*, se confirman como marcadores de la alimentación en montanera. Por tanto, son métodos que complementan el método oficial de clasificación de la materia prima basado en el análisis mediante cromatografía de gases de la composición en ácidos grasos de la grasa subcutánea, al permitir diferenciar materia prima de cerdos de montanera de aquella procedente de cerdos criados en intensivo con piensos enriquecidos en ácido oleico (C18:1 n-9).

La utilización de una técnica analítica rápida y no destructiva como la medida de la velocidad de ultrasonidos en grasa subcutánea podría ser útil en la clasificación de la materia prima en base a la alimentación recibida por los animales durante el periodo de cebo.

I.5. REFERENCIAS

Alasnier C. y Gandemer G. (2000). Activities of phospholipases A and lysophospholipases in glycolytic and oxidative skeletal muscles in the rabbit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(6), 698-702.

- Andrés A. I., Cava R., Mayoral A. I., Tejeda J. F., Morcuende D. y Ruiz J. (2001). Oxidative stability and fatty acid composition of pig muscles affected by rearing system, crossbreeding and metabolic type of muscle fibre. *Meat Science*, 59, 39-47.
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists. (1990). Official Methods of Analysis. En: S. Williams. Arlington V.A. Association of Official Analytical Chemists.
- Bendito J., Carcel J. A., Sanjuan N. y Mulet A. (2000). Use of ultrasound to assess Cheddar cheese characteristics. *Ultrasonics*, 38, 727-730.
- Bendito J., Carcel J. A., Rosello C. y Mulet A. (2001). Composition assessment of raw meat mixtures using ultrasonics. *Meat Science*, 57, 365-370.
- Benito J., Ferrera J. L., Lara E., Prieto L. y García Casco J. M. (2001). Caracteres productivos y de calidad en cerdos Ibéricos puros y cruzados con Duroc. Influencia de la montanera sobre su perfil de ácidos grasos. *Solo Cerdo Ibérico*, nº octubre 2001, 7-18.
- Berdagué J. L y García C. (1990). Les componentes volatiles du jambon sec. *Viandes y Produits Carnés*, 11, 319-320.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
- BOE, Boletín Oficial del Estado. (2001). Real Decreto 1083/2001, de 5 de Octubre, por el que se aprueba la norma de calidad para el jamón Ibérico, paleta ibérica y caña de lomo Ibérico elaborados en España. *B.O.E.*, 247, 15 de Octubre, 37830-37833.
- BOE, Boletín Oficial del Estado. (2004). Orden presidencial 3844/2004, de 18 de Noviembre, por la que se establecen los métodos oficiales de toma de muestras en canales de cerdos Ibéricos y el método de análisis para la determinación de la composición en ácidos grasos de los lípidos totales del tejido adiposo subcutáneo de cerdos Ibéricos. *B. O. E* nº 283, 24 de Noviembre, 38770-38779.
- Bories G. F y Tulliez J. E. (1977). A versatile method for the determination of normal paraffins in foods. *Journal Science of Food and Agricultural*, 28, 996-999.
- Carrodegua J.A., Burgos C., Moreno C., Sánchez A. C., Ventanas S., Tarrafeta L., Barcelona J. A., López M. O., Oria R., López Buesa P. (2005). Incidence in diverse pig population of an IGF2 mutation with potential influence on meat quality and quantity: An assay based on real time PCR (RT-PCR). *Meat Science*, 71(3), 577-582
- Cava R., Ruiz J., López-Bote C., Martín L., García C., Ventanas J., y Antequera T. (1997). Influence of finishing diet on fatty acid profiles of intramuscular lipids, triglycerides and phospholipids in muscle of the Iberian pig. *Meat Science*, 45 (2), 263-270.
- Cava R.; Ventanas J.; Tejeda J. F.; Ruiz J., & Antequera T. (2000). Effect of free-range rearing and α -tocopherol and copper supplementation on fatty acid profiles and susceptibility to lipid oxidation of fresh meat from Iberian pigs. *Food Chemistry*, 68, 51-59.
- Chang J. H. P., Lunt D. K. y Smith S. B. (1992). Fatty acid composition and fatty acid elongase and stearoyl-CoA desaturase activities in tissues of steers fed high oleate sunflower seed. *Journal of Nutrition*, 122, 2074-2080.
- Convenio MAPA-ASICI <http://www.mapa.es/alimentacion/pags/iberico/convenio-mapa-asici.pdf>.

- Cunningham H. M. (1968). Effect of caffeine on nitrogen retention, carcass composition, fat mobilization and the oxidation of C14 labelled body fat in pigs. *Journal of Animal Science*, 27, 424-430.
- Daza A., Rey A. I., Ruiz J., y López-Bote C. (2005). Effects of feeding in free-range conditions or in confinement with different dietary MUFA/PUFA ratios and α -tocopheryl acetate, on antioxidants accumulation and oxidative stability in Iberian pigs. *Meat Science*, 69, 151-163.
- Davenel A., Riaublanc A., Marchal P y Gandemer G. (1999). Quality of pig adipose tissue: relationship between solid fat content and lipid composition. *Meat Science*, 51, 73-79.
- Flores J., Biron C., Izquierdo L y Nieto P. (1988). Characterization of green hams from Iberian pigs by fast analysis of subcutaneous fat. *Meat Science*, 23, 253-262.
- Freire J.P., Mourot J., Cunha L.F., Almeida J.A. y Aumaitre A. (1998). Effect of the source of dietary fat on post-weaning lipogenesis in lean and fat genotypes of pigs. *Annales Nutrition Metabolisme*, 42, 90-95.
- Gandemer G. (2002). Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory of meat products. *Meat Science*, 62, 309-321.
- Hellerstein M.K., Neese R.D. y Schwarz J.M. (1993). Model for measuring absolute rates of hepatic de novo lipogenesis and reesterification of free fatty acids. *American Journal of Physiology*, 265, 814-820.
- Lauridsen C., Soren Krogh J., Skibsted L. H., y Bertelsen G. (2000). Influence of supranutritional vitamin E and copper on α -tocopherol deposition and susceptibility to lipid oxidation of porcine membrane fractions of *M. Psoas major* and *M. Longissimus dorsi*. *Meat Science*, 54, 377-384.
- Leskanich C. O., Matthews K. R., Warkup C. C., Noble R. C. y Hazzledine M. (1997). The effect of dietary oil containing (n-3) fatty acids on the fatty acid, physicochemical and organoleptic characteristics of pig meat and fat. *Journal of Animal Science*, 75, 673-683.
- Lintas C., Balduzzi A. M., Bernardini M. P. y D Muccio A. (1979). Distribution of hydrocarbons in bovine tissues. *Lipids*, 14, 298-303.
- Lo Fiego D. P., Santoro P., Macchioni P., Masón D., Piattoni F., Tassone F. y De Leonibus E. (2004). The effect of dietary supplementation of vitamins C and E on the α -tocopherol content of muscles, liver and kidney, on the stability of lipids, and on certain meat quality parameters of the longissimus dorsi of rabbits. *Meat Science*, 57, 319-327.
- Lopez-Bote C. J., Rey A., Isabel B. y Sanz Arias R. (1997). Effects of feeding diets high in monounsaturated fatty acids and α -tocopheryl acetate to rabbits on resulting carcass fatty acid profile and lipid oxidation. *Animal Science*, 64, 177-186.
- Lopez-Bote C. J. (1998). Sustained utilization of the Iberian Pig Breed. *Meat science*, 49 (1), 17-27.
- López Bote C. y Rey A. I. (2001). Susceptibility of hepatic tissue of Iberina pigs is enhanced by free-range feeding and reduced by vitamin E supplementation. *Nutrition Research*, 21, 541-549.
- Lynch A., Kerry J. P., Buckley D. J., Morrissey P. A., y Lopez-Bote, C. (2001). Use of high pressure liquid chromatography (HPLC) fro the determination of cda-tocopherol levels in forage (silage/grass) samples collected from different regions in Ireland. *Food Chemistry*, 72, 521-524.
- McClements D. J. (1997). Ultrasonic characterization of food and drinks: principles, methods and applications. *CRC, Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37, 1-46.

- Miles C. A., Furse y G. A. y Jones R. C. D. (1985). Ultrasonic estimation of solid/liquid ratios in fats, oils and adipose tissue. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 36, 215-228.
- Monahan F. J., Buckley D. J., Morrissey P. A., Lynch P. B. y Gray J. I. (1992). Influence of dietary fat and α -tocopherol supplementation on lipid oxidation in pork. *Meat Science*, 31, 229-241.
- Morales J., Pérez J. F., Baucells M. D., Mourot J. y Gasa J. Comparative digestibility and lipogenic activity in Landrace and Iberian pig fed ad libitum corn- and corn-sorghum-acorn-based diets. *Livestock Production Science*, 77, 195-205.
- Muriel E., Ruiz J., Ventanas J., y Antequera, T. (2002). Free-range rearing increase (n-3) polyunsaturated fatty acids of neutral and polar lipids in swine muscles. *Food Chemistry*, 78, 219-225.
- Muriel E., Ruiz J., Ventanas J., Petró M. J. y Antequera T. (2004). Meat quality characteristics in different lines of Iberian pigs. *Meat Science*, 67, 299-307.
- Muriel M. E., Antequera T., Petró M. J., Andrés A. I. y Ruiz J. (2005). Stereospecific analysis of fresh and dry cured muscle phospholipids from Iberian pigs. *Food Chemistry*, 90, 437-443.
- Morcuende D. (2005). Evaluación tecnológica de la carne de cerdo Duroc y sus cruces con el cerdo Ibérico destinada a la producción de carne fresca y su transformación en productos cárnicos curados. *Tesis Doctoral*. Universidad de Extremadura
- Nuernberg K., Fischer K., Nuernberg G., Kruechenmeister U., Klosowaska D., Eliminowska-Wenda G., Fiedler I., y Ender, K. (2005). Effects of dietary olive and linseed oil on lipid composition, meat quality, sensory characteristics and muscle structure in pigs. *Meat Science*, 70, 63-74.
- Petró M. J., Tejada J. F., Muriel E., Ventanas J., y Antequera T. (2005). Study of the branched hydrocarbon fraction of intramuscular lipids from Iberian dry cured ham. *Meat Science*, 69, 129-134.
- Okayasu T., Kameda K., Ono T. y Imai Y. (1977). Effect of dietary vitamin B₂ and vitamin E on the Δ -9-desaturase and catalase activities in rat liver microsomes. *Biochemistry and Biophysics Acta*, 489, 389-402.
- O'Sullivan M. G., Kerry J. P., Buckley D. J., Lynch P. B. y Morrissey P. A. (1997). The distribution of dietary vitamin E in the muscles of the porcine carcass. *Meat Science*, 45 (3), 297-305.
- Rey A., Lopez-Bote C., Soares M., e Isabel B. (1996). Determination of α -tocopherol in pork with high intramuscular fat content. *Grasas y Aceites*, 47, 331-334.
- Rey A., Lopez-Bote C., Ferry J. P., Lynch P. B., Buckley D. J. y Morrissey P. B. (1994). Modification of lipid composition and oxidation in porcine muscle and muscle microsomes as affected by dietary supplementation with n-3 with either n-9 or n-6 fatty acids and α -tocopheryl acetates. *Animal Feed Science and Technology*, 113, 223-238.
- Rey A. I., Daza A., López-Carrasco C. y López-Bote C. J. (2006). Feeding Iberian pigs with acorns and grass in either free-range or confinement affects the carcass characteristics and fatty acids and tocopherols accumulation in *Longissimus dorsi* muscle and backfat. *Meat Science*, 73, 66-74.
- Ruiz J., Cava, R., Antequera, T., Martín, L., Ventanas, J., y López-Bote, C. (1998). Prediction of the feeding background of Iberian pigs using the fatty acid profile of subcutaneous, muscle and hepatic fat. *Meat Science*, 49(2), 155-163.
- Ruiz J., Ventanas J., Cava R., Andrés A. y García C. (2000). Texture and appearance of dry-cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International*, 33, 91-95.

- Ruiz J., Antequera T., Andres A. I, Petró M.J., & Muriel E. (2004) Improvement of a solid phase extraction method for analysis of triacylglycerols in muscle foods. *Analytica Chimica Acta*, 520, 201-205.
- Sandler S. R., y Karo W. (1992). Source book of advances organic laboratory preparations. Academic Press, San Diego
- Simal S., Benedito J., Clemente G., Femenia A. y Rosselló C. (2003). Ultrasonic determination of the composition of a meat-based products. *Journal of Food Engineering*, 58, 253-257.
- SPSS (1997). SPSS for Windows: advanced statistic release, Chicago. SPSS.
- Tejeda J. F., Antequera T., Martín L., Ventanas J. y García C. (2001). Study of the branched hydrocarbon fraction of intramuscular lipids from Iberian fresh ham. *Meat Science*, 58, 175-179.
- Tejeda J. F., Gandemer G., Antequera T., Viau M, García C. (2002). Lipids traits of muscles as related to genotype and fattening diet in Iberian pigs: total intramuscular lipids and triacylglycerols. *Meat Science*, 60, 357-363.
- Ventanas J. (2005). Métodos complementarios de clasificación en el cerdo Ibérico. *Revista de la Asociación de Industrias de la Carne de España (AICE)*, nº 86, junio 2005, 32-35.
- Ventanas S., Ventanas J., Ruiz J. y Estévez M. (2005). Iberian pigs for the development of high-quality cured products. In *Recent Research in Development in Agricultural and Food Chemistry*. (pp. 27-53), Trivandrum, Kerala, India: Research Singpost.
- Warnants N., Van Oeckel M.J. y Boucqué Ch. V. (1996). Incorporation of dietary polyunsaturated fatty acids in pork tissues and its implications for the quality of the end products. *Meat Science*, 44, 125-144
- Wood J.D., Richardson R.I., Nute G.R., Fisher A.V., Campo M.M., Kasapidou E., Sheard P.R. y Enser M. (2003). Effects of fatty acid on meat quality: a review. *Meat Science*, 66, 21-32.

Tabla 1. Composición química y composición en ácidos grasos de los alimentos suministrados a los animales durante el periodo de cebo

	CONTROL	AOVE	BELLOTAS	HIERBA
Materia seca	88.66	90.54	53.9	10.76
Cenizas ¹	3.95	4.62	2.17	8.46
Proteína ¹	16.72	16.95	8.05	40.06
Fibra bruta ¹	3.29	5.69	1.87	20.2
Grasa ¹	3.55	8.29	7.18	3.07
S.E.L.N. ¹	72.49	64.45	86.07	28.21
Acidos grasos (%)				
C14:0	0.62	0.11	0.12	3.74
C16:0	18.49	7.44	11.62	14.31
C16:1	1.39	0.23	0.09	1.09
C17:0	0.18	0.05	0.1	0.19
C17:1	0.13	0.04	0.13	0.73
C18:0	5.76	3.46	nd	2.04
C18:1 (n-9)	30.8	67.05	66.15	5.37
C18:2 (n-6)	39.8	20.12	18.38	11.71
C18:3 (n-3)	2.82	1.5	2.66	59.26
C20:0	nd	nd	0.25	1.4
C20:1	nd	nd	0.51	0.16
ΣAGS	25.05	11.06	12.09	21.68
Σ AGMI	32.32	67.32	66.88	7.35
Σ AGPI	42.62	21.62	21.04	70.97

¹Expresado en % de materia seca

S.E.L.N.: sustancias extractivas libres de Nitrógeno.

Ingredientes del pienso AOVE (mg Kg⁻¹): cebada 48 x 10⁴, trigo 15 x 10⁴, salvado 15 x 10⁴, soybean meal 8.5 x 10⁴, pulpa de remolacha 5 x 10⁴, girasol alto oleico 5.75 x 10⁴, carbonato de calcio 9 x 10³, fosfato de calcio 7 x 10³, cloruro sódico 4 x 10³, corrector 5 x 10³, mix vit E 250.

Ingredientes del pienso control (CON) (mg Kg⁻¹): cebada 15 x 10⁴, trigo 50 x 10⁴, maíz 20 x 10⁴, soybean meal 1.1 x 10⁴, tocino 1.2 x 10⁴, carbonato de calcio 8 x 10³, fosfato de calcio 1.1 x 10⁴, cloruro sódico 4 x 10³, corrector 5 x 10³.

Tabla 2. Composición de ácidos grasos (expresado en % de ésteres metílicos) y contenido en Neofitadieno de la grasa subcutánea (tocino dorsal) de cerdos Ibéricos de diferente genética y alimentación.

	IBxD-CON	IBxD-AOVE	DxIB-AOVE	IB-AOVE	IB-MON	EEM ¹	p ²
C14:0	1.25 ^{ab}	1.21 ^{ab}	1.26 ^a	1.23 ^{ab}	1.16 ^b	0.011	0.020
C16:1	2.45 ^a	2.17 ^b	2.25 ^{ab}	2.21 ^{ab}	1.92 ^c	0.037	0.000
C16:0	23.04 ^a	21.16 ^b	21.16 ^b	20.89 ^b	21.52 ^b	0.139	0.000
C17:0	0.34 ^{ab}	0.36 ^a	0.31 ^b	0.33 ^{ab}	0.26 ^c	0.007	0.000
C17:1	0.32 ^a	0.32 ^a	0.29 ^{ab}	0.30 ^{ab}	0.25 ^b	0.008	0.008
C18:0	12.16 ^a	10.11 ^c	9.95 ^c	9.96 ^c	11.04 ^b	0.157	0.000
C18:1 (n-9)	48.10 ^c	52.19 ^b	52.28 ^b	53.15 ^{ab}	53.55 ^a	0.289	0.000
C18:2 (n-6)	9.79 ^b	10.54 ^a	10.47 ^a	9.81 ^b	7.94 ^c	0.142	0.000
C18:3 (n-3)	0.56 ^{ab}	0.60 ^a	0.60 ^a	0.52 ^b	0.53 ^b	0.008	0.000
C20:0	0.03 ^{bc}	0.04 ^{bc}	0.03 ^c	0.05 ^b	0.24 ^a	0.011	0.000
C20:1	1.36 ^b	1.28 ^b	1.38 ^b	1.64 ^a	1.65 ^a	0.029	0.000
C20:4 (n-6)	0.01 ^c	0.15 ^a	0.15 ^a	0.12 ^b	0.09 ^c	0.007	0.000
ΣAGS	36.82 ^a	32.88 ^{bc}	32.71 ^c	32.47 ^c	34.22 ^b	0.274	0.000
ΣAGMI	52.23 ^c	55.95 ^b	56.20 ^{ab}	57.30 ^a	57.36 ^a	0.287	0.000
ΣAGPI	10.36 ^b	11.29 ^a	11.22 ^a	10.46 ^b	8.56 ^c	0.150	0.000
Neofitadieno ³	0.000	0.000	0.000	0.000	1.9 ± 0.570		

¹EEM: error estándar de la media. ²p: nivel de significación. ³: expresado en área x100/área patrón interno IB. Raza Ibérica pura. IBxD: cruce ♀Ibérico x Duroc, 50%. DxIB: cruce ♀Duroc x Ibérico, 50%. CON: Pienso control. AOVE: pienso enriquecido con girasol alto oleico y suplementado con α-tocoferol. MON: montanera

Distintas letras en superíndices indican diferencias significativas entre medias

Tabla 3. Composición en ácidos grasos (expresado en % de ácidos grasos totales) de la grasa intramuscular de la fracción de lípidos neutros del músculo *l.dorsi* de los 5 lotes estudiados.

	IBxD-CON	IBxD-AOVE	DxIB-AOVE	IB-AOVE	IB-MON	EEM ¹	p ²
C10:0	0.08 ^b	0.10 ^a	0.07 ^b	0.05 ^c	0.07 ^b	0.003	0.000
C12:0	0.08	0.09	0.08	0.08	0.08	0.002	0.257
C14:0	1.31 ^b	1.29 ^b	1.34 ^b	1.47 ^a	1.37 ^b	0.015	0.000
C14:1	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.002	0.196
C15:0	0.04	0.06	0.05	0.04	0.04	0.002	0.092
C15:1	0.03 ^b	0.03 ^{ab}	0.03 ^{ab}	0.03 ^{ab}	0.04 ^a	0.002	0.033
C16:0	24.73 ^{bc}	24.09 ^c	25.02 ^{bc}	26.37 ^a	25.73 ^{ab}	0.157	0.000
C16:1	4.44 ^{ab}	4.24 ^b	4.25 ^b	4.88 ^a	4.52 ^{ab}	0.066	0.010
C17:0	0.15 ^{bc}	0.20 ^a	0.17 ^b	0.15 ^{bc}	0.13 ^c	0.005	0.000
C17:1	0.21 ^{ab}	0.25 ^a	0.22 ^{ab}	0.21 ^{ab}	0.19 ^b	0.005	0.005
C18:0	11.46	11.07	11.62	11.05	10.87	0.098	0.069
C18:1 (n-9)	52.13 ^a	52.25 ^a	51.95 ^{ab}	50.68 ^b	51.54 ^{ab}	0.175	0.027
C18:2 (n-6)	3.12 ^b	3.81 ^a	3.25 ^{ab}	3.38 ^{ab}	3.25 ^{ab}	0.069	0.036
C18:3 (n-6)	0.02	0.03	0.02	0.02	0.03	0.002	0.517
C18:3 (n-3)	0.22 ^b	0.27 ^a	0.21 ^b	0.22 ^b	0.22 ^b	0.005	0.002
C20:0	0.27	0.27	0.27	0.25	0.25	0.003	0.045
C20:1	0.84	0.84	0.83	0.82	0.85	0.008	0.762
C20:2	0.18 ^b	0.23 ^a	0.18 ^b	0.18 ^b	0.17 ^b	0.004	0.000
C20:3 (n-3)	0.02 ^b	0.03 ^a	0.02 ^{bc}	0.02 ^{bc}	0.02 ^c	0.001	0.000
C20:3 (n-6)	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.002	0.256
C20:4 (n-6)	0.14 ^{bc}	0.18 ^a	0.15 ^b	0.14 ^{bc}	0.12 ^c	0.004	0.000
C20:5 (n-3)	0.04 ^a	0.04 ^a	0.04 ^a	0.04 ^a	0.02 ^b	0.002	0.000
C22:1	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.001	0.064
C22:4 (n-6)	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.002	0.159
C22:5 (n-3)	0.08 ^a	0.08 ^{ab}	0.07 ^{bc}	0.07 ^{ab}	0.06 ^c	0.002	0.000
C22:6 (n-3)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.000	0.868
ΣAGS	38.16 ^{ab}	37.24 ^b	38.51 ^{ab}	39.59 ^a	38.69 ^{ab}	0.193	0.005
ΣAGMI	57.91	57.83	57.22	56.86	57.45	0.174	0.301
ΣAGPI	3.80 ^b	4.93 ^a	4.05 ^b	4.14 ^b	3.95 ^b	0.088	0.001
Σn6	3.24 ^b	4.27 ^a	3.65 ^b	3.60 ^b	3.44 ^b	0.085	0.005
Σn3	0.37 ^{ab}	0.42 ^a	0.36 ^{bc}	0.35 ^{bc}	0.31 ^c	0.008	0.000
n6/n3	8.89 ^c	9.82 ^b	10.27 ^b	10.54 ^{ab}	11.21 ^a	0.140	0.000

¹EEM: error estándar de la media. ²p: nivel de significación.

IB: Raza Ibérica pura. IBxD: cruce ♀Ibérico x Duroc, 50%. DxIB: cruce ♀Duroc x Ibérico, 50%. CON: pienso control. AOVE: pienso enriquecido con girasol alto oleico y suplementado con α-tocoferol. MON: montanera

Distintas letras en superíndices indican diferencias significativas (p<0.05) entre medias

Tabla 4. Composición en ácidos grasos (expresado en % de ácidos grasos totales) de la grasa intramuscular de la fracción de lípidos polares del músculo *l.dorsi* de los 5 lotes estudiados.

	IBxD-CON	IBxD-AOVE	DxIB-AOVE	IB-AOVE	IB-MON	EEM ¹	p ²
C10:0	0.10 ^{bc}	0.06 ^{bc}	0.03 ^c	0.13 ^b	0.52 ^a	0.026	0.000
C12:0	0.23 ^b	0.04 ^c	0.02 ^c	0.07 ^c	0.56 ^a	0.028	0.000
C14:0	0.70 ^b	0.92 ^b	1.51 ^a	0.91 ^b	0.67 ^b	0.072	0.000
C14:1	0.66 ^{ab}	0.45 ^c	0.84 ^a	0.52 ^{bc}	0.43 ^c	0.031	0.000
C15:0	0.13	0.13	0.15	0.13	0.15	0.002	0.144
C15:1	0.22 ^a	0.13 ^b	0.18 ^{ab}	0.19 ^{ab}	0.24 ^a	0.009	0.004
C16:0	20.49 ^b	20.31 ^b	19.21 ^b	20.00 ^b	24.22 ^a	0.294	0.000
C16:1	1.36	1.20	1.31	1.33	1.62	0.053	0.198
C17:0	0.30	0.30	0.28	0.32	0.28	0.006	0.087
C17:1	0.22 ^b	0.18 ^b	0.21 ^b	0.21 ^b	0.31 ^a	0.011	0.000
C18:0	7.13 ^b	7.23 ^b	5.92 ^c	7.18 ^b	13.82 ^a	0.404	0.000
C18:1 (n-9)	11.89 ^c	19.03 ^a	16.88 ^b	18.69 ^a	16.55 ^b	0.404	0.000
C18:2 (n-6)	37.50 ^a	32.69 ^b	33.78 ^b	32.33 ^b	24.49 ^c	0.616	0.000
C18:3 (n-6)	0.24 ^a	0.19 ^b	0.22 ^a	0.17 ^b	0.07 ^c	0.009	0.000
C18:3 (n-3)	0.45 ^a	0.40 ^a	0.39 ^a	0.39 ^a	0.32 ^b	0.009	0.000
C20:0	0.04 ^b	0.04 ^b	0.04 ^b	0.05 ^b	0.21 ^a	0.010	0.000
C20:1	0.25 ^b	0.26 ^b	0.23 ^b	0.28 ^b	0.53 ^a	0.016	0.000
C20:2	0.39 ^b	0.37 ^b	0.34 ^{bc}	0.31 ^c	0.64 ^a	0.017	0.000
C20:3 (n-3)	0.36 ^{ab}	0.38 ^a	0.31 ^{bc}	0.27 ^c	0.26 ^c	0.009	0.000
C20:3 (n-6)	1.16 ^a	1.11 ^a	1.15 ^a	1.10 ^a	0.67 ^b	0.033	0.000
C20:4 (n-6)	11.83 ^a	11.18 ^a	11.86 ^a	11.16 ^a	8.27 ^b	0.426	0.000
C22:5 (n-3)	0.32 ^c	0.35 ^{bc}	0.38 ^{bc}	0.40 ^b	0.58 ^a	0.014	0.000
C22:2	0.09	0.05	0.08	0.11	0.00	0.004	0.000
C22:4 (n-6)	1.57 ^a	1.41 ^b	1.33 ^b	1.07 ^c	1.01 ^c	0.033	0.000
C22:5 (n-3)	1.48 ^a	1.32 ^{ab}	1.53 ^a	1.16 ^b	0.92 ^c	0.043	0.000
C22:6 (n-3)	0.23 ^a	0.22 ^a	0.24 ^a	0.13 ^b	0.15 ^b	0.007	0.000
ΣAGS	30.42 ^b	29.09 ^{bc}	27.20 ^c	30.39 ^b	42.81 ^a	0.808	0.000
ΣAGMI	13.63 ^c	21.47 ^{ab}	20.82 ^{ab}	21.90 ^a	19.38 ^b	0.500	0.000
ΣAGPI	54.10 ^a	49.02 ^b	50.86 ^{ab}	48.75 ^b	35.35 ^c	1.047	0.000
Σn6	52.40 ^a	45.62 ^b	48.05 ^b	45.81 ^b	32.65 ^c	1.030	0.000
Σn3	2.40 ^a	2.52 ^a	2.36 ^a	1.99 ^a	1.35 ^b	0.084	0.000
n6/n3	20.86 ^{ab}	18.71 ^c	19.43 ^{bc}	22.82 ^a	21.94 ^a	0.298	0.000

¹EEM: error estándar de la media. ²p: nivel de significación.

IB. Raza Ibérica pura. IBxD: cruce ♀Ibérico x Duroc, 50%. DxIB: cruce ♀Duroc x Ibérico, 50%. CON: pienso control. AOVE: pienso enriquecido con girasol alto oleico y suplementado con α-tocoferol. MON: montanera

Distintas letras en superíndices indican diferencias significativas (p<0.05) entre medias

Tabla 5. Composición en ácidos grasos (expresado en % de ácidos grasos totales) de la grasa intramuscular de la fracción de ácidos grasos libres (AGL) del músculo *l.dorsi* de los 5 lotes estudiados.

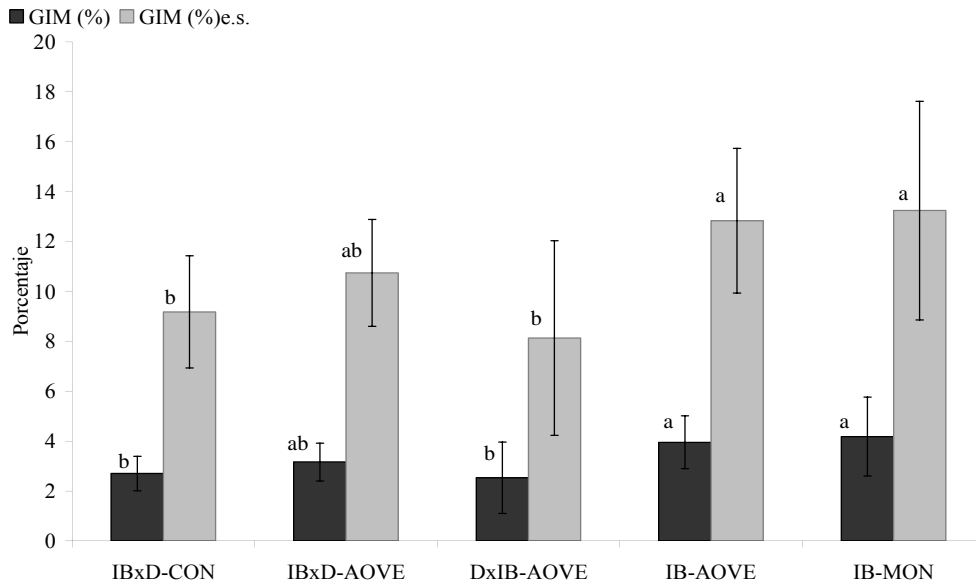
	IBxD-CON	IBxD-AOVE	IB-AOVE	DxIB-AOVE	IB-MON	EEM ¹	p ²
C10:0	3.39 ^b	8.57 ^a	3.14 ^b	2.40 ^b	0.40 ^c	0.366	0.000
C12:0	2.11 ^a	0.61 ^b	0.62 ^b	1.97 ^a	0.38 ^b	0.124	0.000
C14:0	1.95 ^b	2.41 ^b	1.98 ^b	3.19 ^a	0.68 ^c	0.146	0.000
C:14 :1	0.37	0.37	0.33	0.35	0.33	0.016	0.884
C15:0	0.62 ^b	0.63 ^b	0.42 ^b	0.85 ^a	0.12 ^c	0.042	0.000
C15:1	0.34 ^{ab}	0.51 ^a	0.37 ^{ab}	0.42 ^{ab}	0.27 ^c	0.024	0.032
C16:0	27.28 ^b	30.56 ^a	23.89 ^c	29.48 ^{ab}	17.31 ^d	0.710	0.000
C16:1	3.09 ^{bc}	3.25 ^{bc}	3.73 ^{ab}	4.24 ^a	2.93 ^c	0.100	0.000
C17:0	0.50 ^b	0.47 ^b	0.48 ^b	0.57 ^a	0.18 ^c	0.020	0.000
C17:1	0.38 ^{ab}	0.36 ^{ab}	0.33 ^b	0.41 ^a	0.20 ^c	0.013	0.000
C18:0	16.46 ^b	12.25 ^c	19.54 ^a	16.41 ^b	8.25 ^d	0.613	0.000
C18:1 (n-9)	20.02 ^c	20.44 ^c	32.16 ^a	23.20 ^c	27.95 ^b	0.767	0.000
C18:2 (n-6)	11.70 ^c	16.95 ^b	7.99 ^d	8.39 ^d	25.01 ^a	0.913	0.000
C18:3 (n-6)	0.14 ^c	0.31 ^a	0.24 ^b	0.00 ^d	0.15 ^c	0.014	0.000
C18:3 (n-3)	0.46 ^b	0.46 ^b	0.40 ^b	0.41 ^b	0.68 ^a	0.021	0.000
C20:0	0.36 ^a	0.21 ^b	0.36 ^a	0.42 ^{ab}	0.12 ^c	0.017	0.000
C20:1	0.44 ^b	0.26 ^c	0.57 ^a	0.55 ^a	0.54 ^a	0.016	0.000
C20:2	0.17 ^{bc}	0.15 ^c	0.24 ^a	0.19 ^b	0.27 ^a	0.007	0.000
C20:3 (n-3)	0.09 ^d	0.29 ^a	0.13 ^c	0.11 ^{bc}	0.19 ^b	0.009	0.000
C20:3 (n-6)	0.46 ^b	0.44 ^b	0.40 ^b	0.34 ^b	0.84 ^a	0.028	0.000
C20:4 (n-6)	2.29 ^b	2.31 ^b	2.18 ^b	1.88 ^b	8.83 ^a	0.382	0.000
C22:5 (n-3)	0.34 ^c	1.11 ^a	0.28 ^c	0.90 ^a	0.55 ^b	0.048	0.000
C22:4 (n-6)	0.34 ^c	0.28 ^d	0.19 ^e	0.41 ^b	0.58 ^a	0.019	0.000
C22:5 (n-3)	0.94 ^b	0.42 ^d	0.75 ^c	0.86 ^{bc}	1.62 ^a	0.055	0.000
C22:6 (n-3)	0.17 ^c	0.17 ^c	0.24 ^b	0.25 ^b	0.36 ^a	0.010	0.000
ΣAGS	54.73 ^{ab}	53.81 ^{ab}	51.38 ^b	57.05 ^a	27.82 ^c	1.542	0.000
ΣAGMI	24.79 ^d	24.10 ^d	37.34 ^a	29.56 ^c	33.39 ^b	0.781	0.000
ΣAGPI	17.77 ^b	19.63 ^b	12.20 ^c	11.37 ^c	38.41 ^a	1.413	0.000
Σn6	15.33 ^b	18.76 ^b	10.95 ^c	11.16 ^c	36.77 ^a	1.380	0.000
Σn3	1.74 ^b	1.16 ^b	1.40 ^b	1.33 ^b	3.67 ^a	0.143	0.000
n6/n3	7.75 ^b	14.69 ^a	7.87 ^b	7.81 ^b	9.51 ^b	0.398	0.000

¹EEM: error estándar de la media. ²p: nivel de significación.

IB. Raza Ibérica pura. IBxD: cruce ♀Ibérico x Duroc, 50%. DxIB: cruce ♀Duroc x Ibérico, 50%. CON: pienso control. AOVE: pienso enriquecido con girasol alto oleico y suplementado con α-tocoferol. MON: montanera

Distintas letras en superíndices indican diferencias significativas (p<0.05) entre medias

Figura 1. Contenido en grasa intramuscular (GIM) expresado como porcentaje sobre materia fresca y sobre materia seca del músculo *l. dorsi* de cerdos de raza Ibérica pura explotados en intensivo en régimen de montanera (IB-MON) o en intensivo con piensos AOVE (IB-AOVE, de cerdos cruzados de madre Ibérica criados en intensivo con piensos AOVE (IBxD-AOVE) o piensos control (IBxD-CON) y de cerdos cruzados de madre Duroc criados en intensivo con piensos AOVE (DxIB-AOVE).



Distintas letras sobre las barras de cada color indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre medias

Figura 2. Contenido ($\mu\text{g/g}$ de muestra) en alfa y gamma-tocoferol del músculo *l.dorsi* de cerdos de raza ibérica pura explotados en intensivo en régimen de montanera (IB-MON) o en intensivo con piensos AOVE (IB-AOVE, de cerdos cruzados de madre Ibérica criados en intensivo con piensos AOVE (IBxD-AOVE) o piensos control (IBxD-CON) y de cerdos cruzados de madre Duroc criados en intensivo con piensos AOVE (DxIB-AOVE).

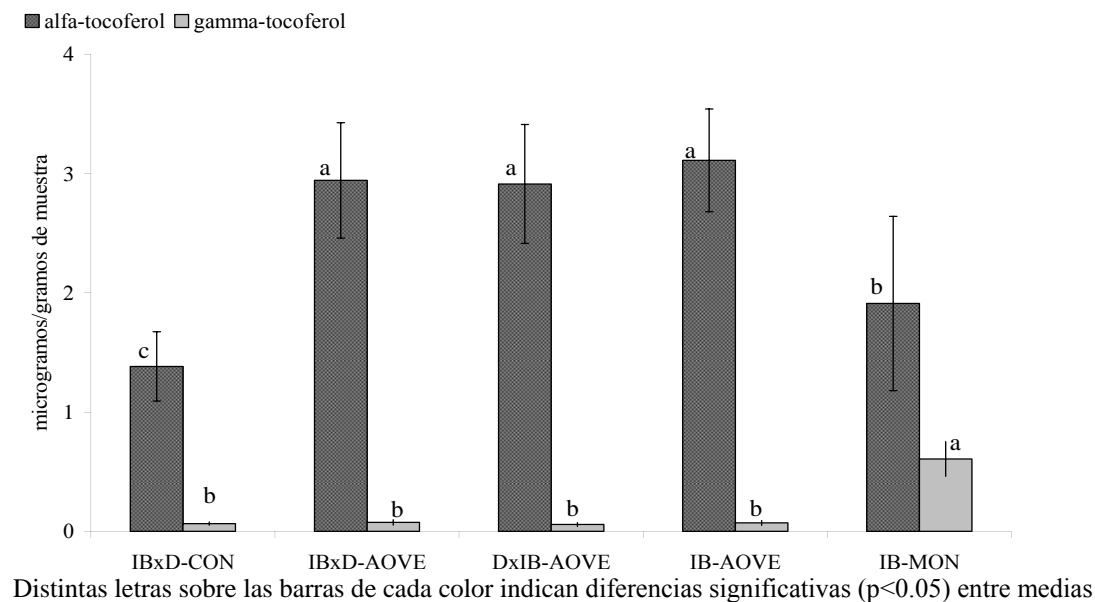


Tabla 6. Medidas (medias) de la velocidad (expresadas en m/s) de ultrasonidos para cada uno de los lotes estudiados a diferentes temperaturas (de 0 a 22°C).

	IBxD-CON	IBxD-AOVE	DxIB-AOVE	IB-AOVE	IB-MON	EEM ¹	<i>p</i>
v (0°C)	1767.45 ^a	1738.35 ^{bc}	1757.83 ^{ab}	1724.53 ^c	1737.20 ^{bc}	3.294	0.000
v (2°C)	1702.56 ^a	1704.66 ^a	1706.53 ^a	1681.96 ^b	1712.10 ^a	2.728	0.007
v (4°C)	1636.02 ^{bc}	1644.92 ^{ab}	1618.66 ^c	1662.65 ^a	1614.58 ^c	3.510	0.001
v (6°C)	1645.81 ^a	1619.68 ^b	1622.98 ^b	1615.12 ^b	1608.33 ^b	3.176	0.000
v (8°C)	1621.69 ^b	1650.02 ^a	1598.77 ^b	1608.12 ^b	1599.43 ^b	3.598	0.000
v (10°C)	1631.88 ^a	1581.56 ^c	1603.41 ^b	1587.77 ^{bc}	1591.55 ^{bc}	2.958	0.000
v (12°C)	1604.65 ^a	1574.82 ^c	1586.00 ^b	1570.72 ^c	1563.90 ^c	2.234	0.000
v (20°C)	1548.71 ^a	1523.66 ^c	1531.42 ^{bc}	1521.51 ^c	1536.88 ^b	1.717	0.000
v (22°C)	1527.09 ^a	1507.07 ^b	1509.97 ^b	1504.73 ^b	1525.34 ^a	1.677	0.000
cociente v(10°C):v(22°C) ²	1.07 ^a	1.05 ^{cd}	1.06 ^{ab}	1.06 ^{bc}	1.04 ^d	0.001	0.000
cociente v(12°C):v(22°C) ²	1.05 ^a	1.04 ^b	1.05 ^a	1.04 ^b	1.03 ^c	0.001	0.000
cociente v(12°C):v(20°C) ²	1.04 ^a	1.03 ^a	1.04 ^a	1.03 ^a	1.02 ^b	0.001	0.000

¹EEM: error estándar de la media. ²p: nivel de significación.

IB. Raza Ibérica pura. IBxD: cruce ♀Ibérico x Duroc, 50%. DxIB: cruce ♀Duroc x Ibérico, 50%. CON: pienso control. AOVE: pienso enriquecido con girasol alto oleico y suplementado con α -tocoferol. MON: montanera

Distintas letras en superíndices indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre medias

² Ratios calculados a partir de las medidas de la velocidad de ultrasonidos a diferentes temperaturas. v(10°C): velocidad a 10°C, v(12°C): velocidad a 12°C, v(20°C): velocidad a 20°C; v(22°C): velocidad a 22°C,

Figura 3. Evolución de la velocidad media de ultrasonidos para cada lote en el rango de temperaturas de 0 a 22°C.

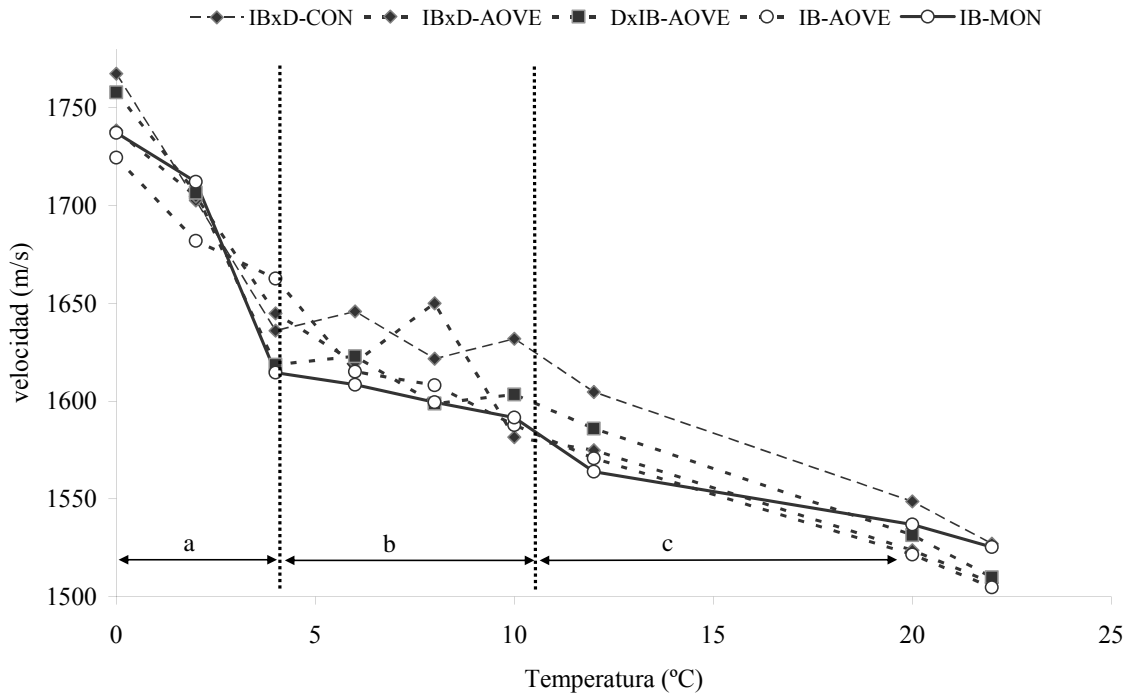
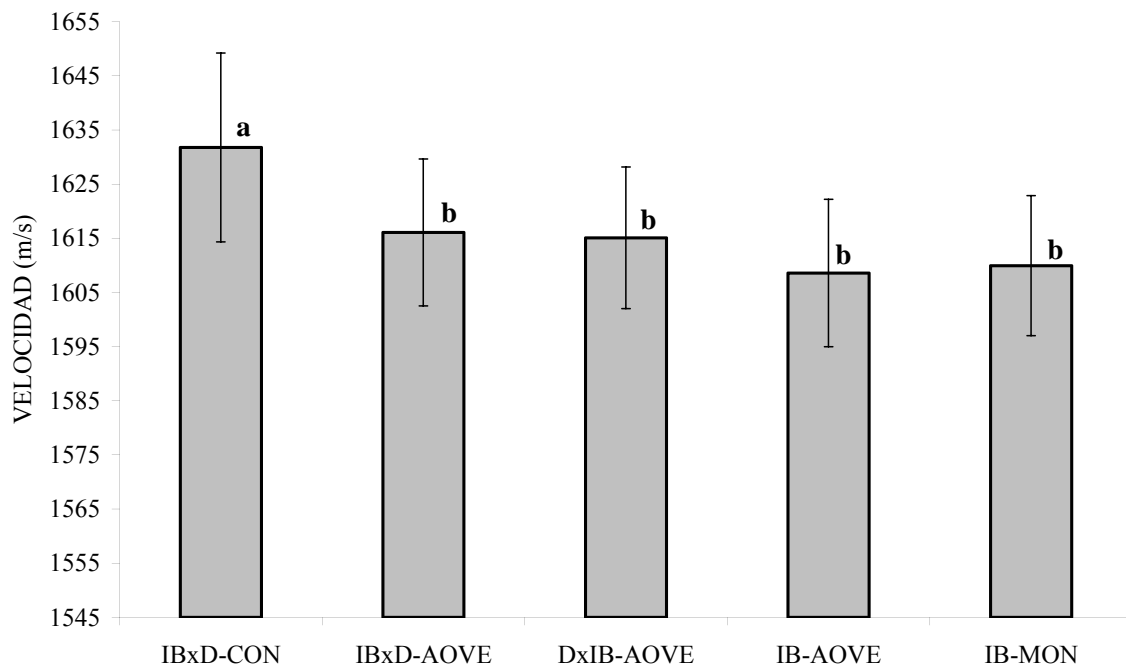
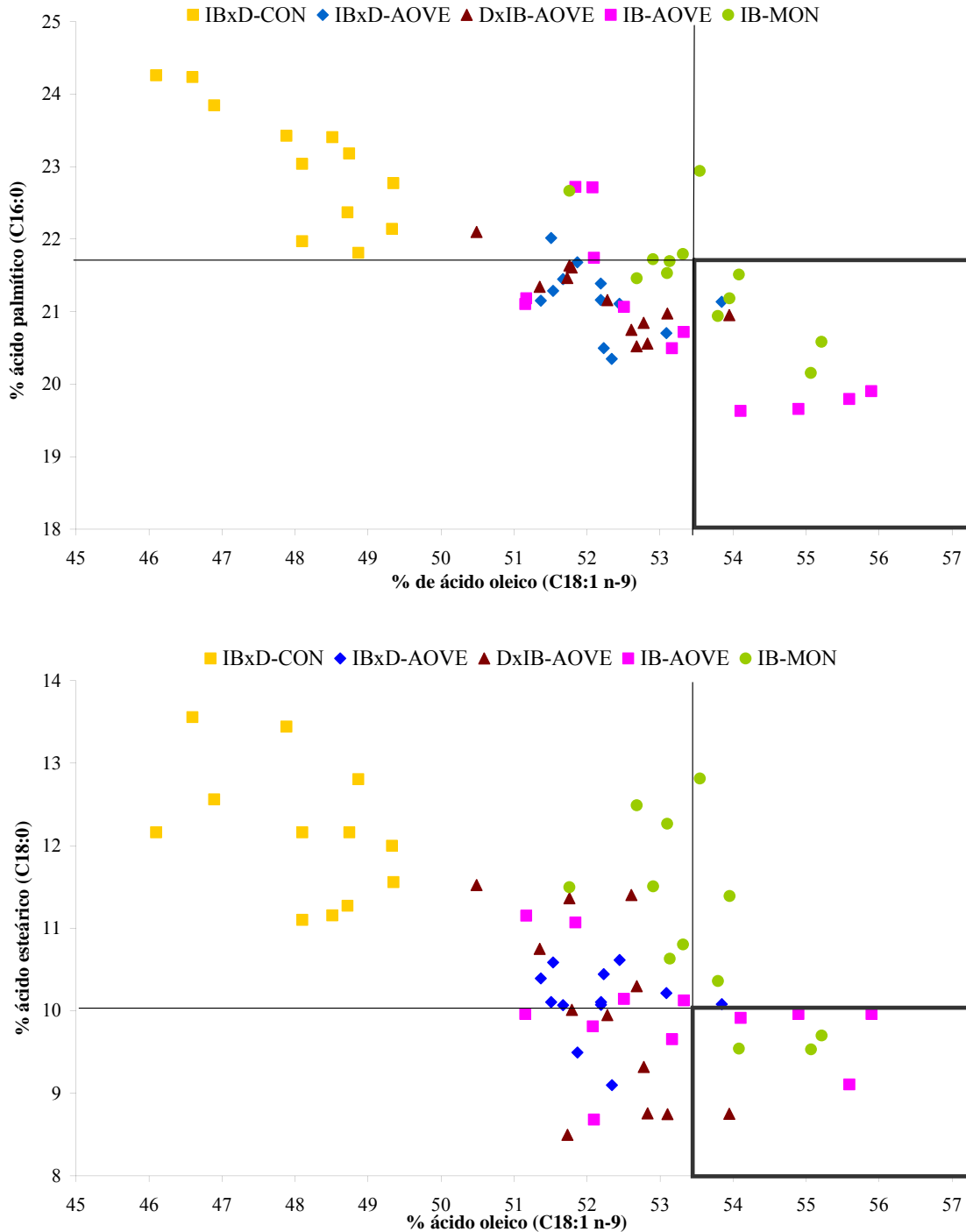


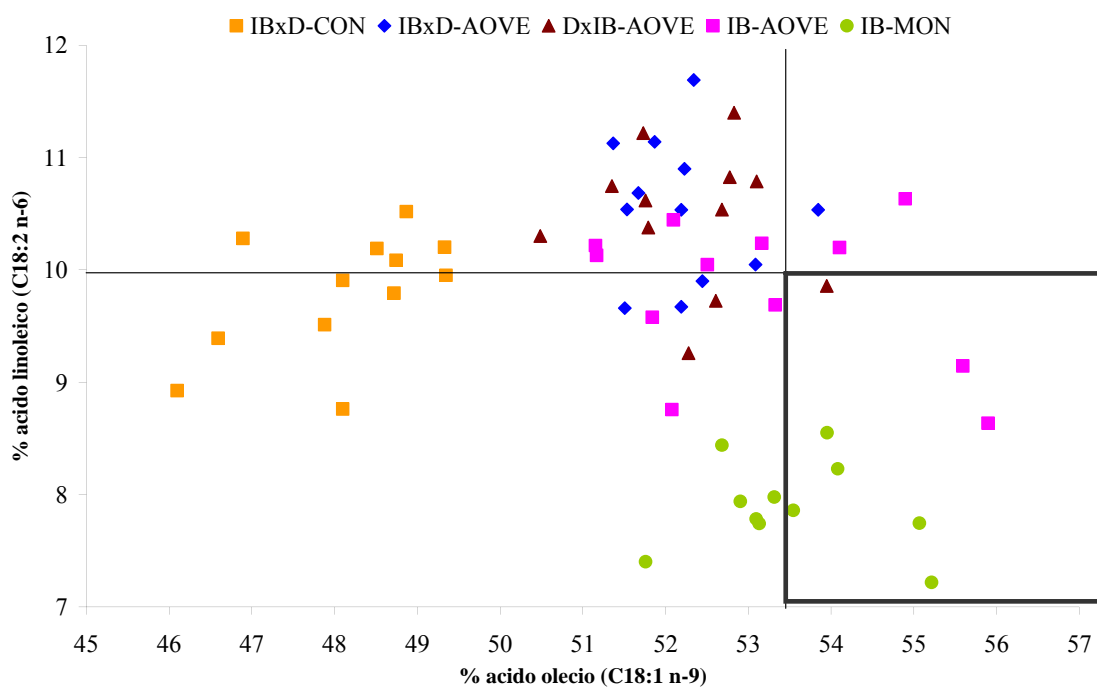
Figura 4. Medidas de la velocidad de ultrasonidos (valores medios) de cada lote (calculado teniendo en cuenta todas las temperaturas estudiadas).



Distintas letras sobre las barras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre medias

Figura 5. Distribución de los lotes estudiados en función del porcentaje de palmítico, esteárico, oleico y linoleico presentado por la grasa subcutánea. Los individuos localizados en el cuadrante inferior derecha son los que entrarían dentro de la clasificación de grupo de alimentación de “bellota” (campaña 2004-2005)





CAPÍTULO II

PROTEIN AND LIPID OXIDATION IN *LONGISSIMUS* *DORSI* AND DRY CURED LOIN FROM IBERIAN PIGS AS AFFECTED BY CROSSBREEDING AND DIET*

* Publicado en *Meat Science* (2006), 72, 647-655.

Abstract

Lipid and protein oxidation in *Longissimus dorsi* (LD) and dry-cured loins from pigs with different genetic (pure Iberian –IBP-, Iberian female x Duroc male –IBxD- and Duroc female x Iberian male –DxIB) and feeding backgrounds (free rearing on acorn and pasture –MON-, concentrates high in oleic acid and supplemented with 250 ppm of vitamin E –HOVE- and control concentrates –CON-), were investigated. Diet influenced the fatty acids profile from PL and α and γ -tocopherol contents of LD. IBP-MON pigs showed the lowest malonaldehyde (MDA) values at minute 200 of iron induced muscle oxidation. Dry-cured loins from IBP-HOVE pigs had significantly ($p < 0.05$) higher values of TBARS than those from the other batches. Neither the diet nor crossbreeding, affected hexanal counts in dry-cured loins. Protein carbonyl content showed a similar trend to that observed for MDA values in LD, suggesting a protective role of tocopherol against lipid and protein oxidation. The positive and significant correlations between iron induced lipid oxidation in LD (min 200) and carbonyl content in LD and dry-cured loin (R^2 : 0.55 and R^2 : 0.52, respectively, $p < 0.01$) supports the relationship between lipid and protein oxidation.

Keywords: Iberian pig, α -tocopherol, High oleic sunflower oil, Lipid oxidation, Protein oxidation, Dry-cured loin.

II.1. INTRODUCTION

Oxidative phenomena in muscle based foods take place immediately after slaughter (even pre-slaughter), when cellular mechanism controlling lipid oxidation no longer work (Morrissey, Sheehy, Galvin, Kerry & Buckley, 1998). Oxidation is considered one of the main causes for functional, sensory and nutritional quality deterioration in meat and meat products, due to insolubilization of proteins, off-flavour development and formation of free radicals and other oxidized compounds, such as cholesterol oxidation products (Morrissey et al., 1998). Nevertheless, lipid oxidation also has positive implications, since some of the volatile compounds which show pleasant flavour notes in Iberian dry-cured meat products arise from oxidation of unsaturated fatty acids (Carrapiso, Ventanas & García, 2002)

Protein oxidation in muscle foods can be linked to any of the prooxidative factors involved in the formation of reactive oxygen species (Xiong, 2000). Protein oxidation undergoes similar processes to those in lipid oxidation, involving initiation, propagation and termination stages (Schaich, 1980). These processes specially affect those amino acids with reactive side chains (Xiong, 2000). As a consequence, carbonyl derivatives may be

generated, protein polymerization may take place or peptides scission may happen (Decker, Xiong, Calvert, Crum & Blanchart, 1993; Xiong, 2000). These processes are commonly linked to a decrease in muscle protein functionality, leading to increasing water losses, weaker protein gels or less stable emulsions (Xiong, 2000). In addition, these modifications can negatively affect the sensory quality of fresh meat and meat products in terms of texture, tenderness and colour (Rowe, Maddock, Lonergan & Huff-Lonergan, 2004).

No study dealing with protein oxidation in dry cured meat products is available in the scientific literature. Since the extent of lipid oxidation in such meat products is high (Cava, Ruiz, Ventanas & Antequera, 1999; Andres, Cava, Ventanas, Muriel & Ruiz, 2004), the occurrence of protein oxidation is probable.

Supplementation of pig feeding with supranutritional amounts of α -tocopherol has been confirmed as a successful strategy for reducing the extent of lipid oxidation in dry cured meat products (Cava et al., 1999). Therefore, it could also show an antioxidant effect on protein oxidation, as has been observed in model systems (Viljanen, Kivikari & Heinonen, 2004).

This study was aimed to evaluate the effect of different factors (crossbreeding, free-range reared, dietary fat and α -tocopherol supplementation) on the oxidation of lipids and proteins in LD and dry-cured loin. Moreover, the relationship between lipid and protein oxidation was assessed.

II.2. MATERIALS AND METHODS

II.2.1. Animals and diets

This study was carried out with 24 IBP, 24 IBxD pigs (Iberian females and Duroc males) and 13 DxIB pigs (Duroc females and Iberian males) with an initial weight of 80 Kg. Pigs were divided into five batches according to the type of feeding during the finish-fattening period (60 days prior to slaughter). Twelve IBP pigs (n=12) were free-range reared and exclusively fed on acorn and grass according to the traditional 'montanera' feeding system (IBP-MON). The rest of the IBP pigs (n=12), eleven IBxD pigs (n=11) and all DxIB pigs (n=13) were reared indoors and fed on concentrates containing high oleic sunflower oil (5.75×10^4 mg kg⁻¹ of diet) and supplemented with 250 ppm of vitamin E (IBP-HOVE, IBxD-HOVE and DxIB-HOVE respectively). Finally, thirteen IBxD pigs (n=13) were reared indoors and fed on control concentrates (IBxD-CON). Crossbreeds and diets are summarized in Table 1.

Animals were slaughtered by electrical stunning and exsanguination at a local slaughterhouse after the fattening period at a live weight of 165-175 kg.

II.2.2. Sampling and processing

Sampling was carried out within an hour of slaughter. LD was removed from the carcass and about 80 g from the central part of the muscle was taken and subsequently stored at -80°C until analysis. Dry cured loins were elaborated using the caudal half of the LD of all animals. Processing was carried out at a commercial plant as follows: after 48 hours of chilling at 4°C, loins were seasoned with a mixture of salt (2.5%), nitrites and sugar (0.7%) and water (1%). Garlic, paprika and olive oil, which are common ingredients for Iberian dry-cured loin, were not used to avoid interferences in lipid oxidation or volatile compounds formation. The loins were kept for 4 days at 4°C to allow the seasoning mixture to penetrate. After that, loins were stuffed into collagen casings and held for one month (30 days) at 4°C at a relative humidity (RH) of 75-80%. Finally, loins were ripened for an additional 60 days at 10-16°C at a RH of 75-65%. Once the processing was completed, loins were vacuum packaged and kept frozen (-80°C) until analysis.

II.2.3. Chemical analysis of diets

Proximate composition of diets was carried out according to the following procedures (AOAC, Association of Official Analytical Chemists, 1990): nitrogen content by the Kjeldahl method (976.05), crude protein (954.01), crude fat (920.39), crude fibre (962.09) and ash (942.05).

II.2.4. Fat extraction and fatty acid analysis of diets and samples

Intramuscular total lipids and lipids from diets were extracted and quantified according to the method described by Bligh and Dyer (1959). Neutral lipids, free fatty acids and PL fractions from IMF were separated using NH₂-aminopropyl minicolumns following the method described by Ruiz, Antequera, Andres, Petron and Muriel (2004). Fatty acid methyl esters (FAMES) of PL and diets were prepared by acidic-trans-esterification in the presence of sulphuric acid (5% sulphuric acid in methanol) (Sandler & Karo, 1992). FAMES were analysed by gas chromatography using a Hewlett-Packard HP-5890A gas chromatograph, equipped with a flame ionisation detector (FID). Separation was carried out on a polyethylene glycol-TPA modified fused silica semicapillary column (30m long, 0.53mm id, 1µm film thickness) maintained at 225°C. Injector and detector temperatures were 230°C. Carrier gas was nitrogen at a flow rate of 1.8 mL min⁻¹. Individual FAME peaks were identified by comparing their retention times with those of standards (Sigma, St Louis). Results are expressed as percentage of selected fatty acids. Total amount of PUFA

from PI fraction was quantified (mg/100g) using tridecanoic acid as internal standard, in order to calculate the ratio total PUFA from PL/ α -tocopherol.

II.2.5. Muscle α -tocopherol content

For the determination of α and γ -tocopherol, 0.8 g muscle was homogenised in 6 mL 0.054 M dibasic sodium phosphate buffer adjusted to pH 7.0 with HCl. After mixing with absolute ethanol and hexane and centrifugation (2000 rpm, 5 min. at 4°C), the upper layer containing tocopherol was evaporated to dryness and subsequently dissolved in ethanol prior to analysis by reverse phase HPLC (HP 1050, with a UVD, HPIB 10 detector)(Hewlett Packard, Waldbronn, Germany). Separation was made on a Lichrocart PR 18 endcapped column (250x4 mm i.d., 5 μ m particle size) (Merck Darmstad, Germany), the mobile phase was methanol:water (97:3 v/v) at a flow rate of 2 mL min⁻¹, and peaks were registered at 292 nm (Rey, Lopez-Bote, Soares & Isabel 1996).

II.2.6. Induced muscle lipid oxidation

The liability of muscle homogenates to iron-induced lipid oxidation was determined as described by Konrbrust and Mavis (1980). To prepare homogenates, 1g ground muscle was homogenized with 9mL 0.15M KCl for 45s. During homogenisation tubes were kept in ice to avoid heating. Protein content was measured in 1mL homogenate following the Lowry procedure (Lowry, Rosenberg, Farr & Randall, 1951). 1mL of muscle homogenate was incubated at 37°C in 40mM tris-maleate buffer (pH 7.4) with 1mM FeSO₄ and 2mM ascorbic acid in a total volume of 10 mL. At fixed intervals (0, 50, 100 and 200 minutes) aliquots were removed for measurement of TBARS by the method of Buege and Aust (1978). Results were expressed as nmoles of MDA per mg protein.

II.2.7. Thiobarbituric acid-reactive substances in dry-cured loin

TBARS were evaluated using the method of Salih, Smith, Price and Dawson (1987). 2.5 grams of product were dispensed in cone plastic tubes and homogenised with 7.5 mL of perchloric acid (3.86%) and 0.25 mL of BHT (4.2% in ethanol). During homogenisation, the plastic tubes were immersed in an ice bath to minimise the development of oxidative reactions during extraction of TBARS. The slurry was filtered and centrifuged (67g for 5 minutes) and 2 mL aliquots were mixed with 2 mL thiobarbituric acid (0.02 M) in test tubes. The test tubes were placed in a hot water bath (90°C) for 30 minutes together with the tubes from the standard curve. After cooling, the absorbance was measured at 532 nm. The standard curve was prepared using a 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) solution (0.2268 g) in 3.86% perchloric acid.

II.2.8. Hexanal in dry-cured loin

Hexanal content was quantified by headspace-SPME and GC/MS (gas chromatograph Hewlett-Packard 5890 serie II coupled to a mass selective detector Hewlett-Packard HP-5791 A) following the method developed by Andres et al. (2004). 1 g of minced sample was weighed into a 4 mL vial. All vials were closed with a teflon/silicone septum. An SPME fiber (85µm carboxen-polidimethylsiloxane coating) was inserted through the septum and exposed to the headspace of the vial. Vials were preconditioned for 15 min at 37°C. Extraction was carried out at 37°C for 30 min in a water bath. After extraction, the SPME fibre was immediately transferred to the injector of the chromatograph which was in splitless mode at 280°C. The separation of hexanal was performed on a 5% Phenyl-Methyl Silicone (HP-5) bonded phase fused silica capillary column (Hewlett-Packard, 50m x 0.32 mm i.d, film thickness 1.05 (µm), operating at 6 psi of column head pressure. Oven program was: 40°C for 10 min, 5°C min⁻¹ to 200°C, 15°C min⁻¹ to 250°C, and held 250°C for 10 min. Transfer line to the mass spectrometer was maintained at 280°C. The mass spectra were obtained using a mass selective detector by electronic impact at 70eV, a multiplier voltage of 1756 V and collecting data at a rate of 1 scan s⁻¹ over the m/z range 30-500. Hexanal was tentatively identified by comparing its mass spectra and retention time with that of a standard (Sigma, St. Louis, USA) injected in the same conditions.

II.2.9. Protein oxidation in LD and dry-cured loin

Protein carbonyls, a protein oxidation index, were quantified in both LD and dry-cured loin, following the method described by Oliver, Ahn, Moerman, Goldstein and Stadtman (1987). Homogenates (1g of sample in 0.15M KCL buffer) were divided into two equal aliquots of 0.1mL. Then, proteins were precipitated in both aliquots by 10% TCA (1 mL) and centrifuged for 5 minutes at 2240g. One pellet was treated with 1 mL of 2 N HCL (protein concentration measurement) and the other with an equal volume of 0.2% (w/v) 2, 4- dinitrophenylhydrazine (DNPH) in 2 N HCL (carbonyl concentration measurement). Both samples were incubated for 1 hour at room temperature. After this time, samples were precipitated with 10% TCA (0.8 mL) and washed twice with 1 mL of ethanol:ethyl acetate (1:1, v/v). The pellets were then dissolved in 2mLl of 6 M guanidine HCL with 20 mM sodium phosphate buffer pH 6.5, stirred and centrifuged for 2 minutes at 2240g to remove insoluble fragments. Protein concentration was calculated from absorption at 280 using BSA as standard. The amount of carbonyls was expressed as nmol of carbonyl per mg of protein using an adsorption coefficient of 21.0 nM⁻¹ cm⁻¹ at 370 nm for protein hydrazones.

II.2.10. Statistics

Data of the different batches were analyzed by a one way of Analysis of Variance using the GLM procedure of the SPSS statistical software (v.12.0). When a significant probability was detected ($p < 0.05$), paired comparisons between means was carried out using the Tukey's test. Pearson's correlation coefficients were also calculated using the CORRELATION procedure of SPSS (v.12.0).

II.3. RESULTS AND DISCUSSION

Proximate compositions and fatty acid profiles of HOVE concentrates, CON mixed diet, grass and acorns are given in Table 2. Grass presented the highest content of crude protein (21.75% DM), crude fibre (20.2% DM) and ash (13.47% DM), whereas the acorns showed the highest content of Nitrogen-free extractives (NFE) (80.73% DM) and the lowest of protein (8.05% DM). HOVE mixed diet presented higher levels of fat than the control diet (8.29 vs 3.55% DM), but similar to those found in acorns (7.18% DM).

These values basically agree with previously reported values (Ruiz, Cava, Antequera, Martín, Ventanas & Lopez-Bote, 1998; Cava, Ventanas, Tejada, Ruiz & Antequera, 2000; Muriel, Ruiz, Ventanas & Antequera, 2002), showing the high fat content of acorns.

The proportion of total saturated fatty acids (SFA) monounsaturated fatty acids (MUFA) and PUFA of feeds revealed notable differences between acorns, grass and concentrates (Table 2). Grass was characterised by a relative high proportion of PUFA (70.97%). Control diet had higher levels of SFA and PUFA (25.05% vs 11.06 % and 42.62% vs 21.62% respectively) and was lower in MUFA (and 32.32% vs 67.32%), compared to the HOVE mixed diet. As intended, HOVE mixed diet and acorns presented similar fatty acid profiles, showing the highest content of MUFA and a relative low content of PUFA, according to previous published works (Muriel et al., 2002).

Table 3 shows the IMF, α and γ -tocopherol content of LD together with the proportions of total SFA, MUFA and PUFA from PL and the ratio between total amount of PUFA from PL / α -tocopherol content.

It seems that crossbreed affected IMF content of LD, since batches from pure Iberian pigs (IBP-HOVE and IBP-MON) showed higher levels of IMF than crossbreed batches (IBxD and DxIB). Regardless of the feeding regime, these differences were significant ($P < 0.05$) except for the IBxD-HOVE batch. On the other hand, diet did not appear to influence this parameter. Iberian pig is a fast maturing and anabolic breed, with a high tendency to accumulate fat (Lopez-Bote, 1998). The crossbreeding of Iberian pigs with Duroc-Jersey

and other commercial breeds increases the lean content of the carcass, and concomitantly decreases the IMF content (Dobao, Rodriganez & Silio, 1986).

α -tocopherol content of LD muscle was significantly influenced by diet, whereas crossbreeding did not show any affect (Table 3). Muscle from pigs supplemented with 250 ppm of α -tocopherol (HOVE diets) presented significantly higher ($p < 0.05$) α -tocopherol contents than muscles from free range reared pigs and pigs fed on CON diets. In fact, supplemented pigs had levels of muscle α -tocopherol between 2.9 and 3.1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, while pigs fed the CON diet had 1.38 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ and free-range animals 1.81 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. These results are in agreement with other studies where the supplementation of pigs with vitamin E involved an increase in α -tocopherol deposition in LD muscles (Rey, Isabel, Cava & Lopez-Bote, 1998; Lauridsen, Soren Krogh, Skibsted & Bertelsen, 2000; Mason, Hogan, Lynch, O'Sullivan, Lawlor & Kerry, 2005) showing that muscle α -tocopherol content depends upon the feeding α -tocopherol concentration. The lower muscle α -tocopherol content in LD from free-range reared pigs than in muscle from vitamin E supplemented pigs could be surprising, since other authors have reported higher levels of α -tocopherol in muscle from Iberian pigs reared outdoors (Cava et al., 2000; Daza, Rey, Ruiz & Lopez-Bote, 2005). These high values were attributed to the high levels of α -tocopherol in the grass. Nevertheless, the amount of ingested grass by free-range animals during fattening is highly variable and depends upon the specific grassland and the climate conditions. Moreover, grass includes a large variety of heterogeneous plant materials with different α -tocopherol contents (Lynch, Kerry, Buckley, Morrissey & Lopez-Bote, 2001).

LD from pigs reared outdoors and fed exclusively on grass and acorns had detectable levels of γ -tocopherol whereas in samples from pigs fed on HOVE and CON diets, γ -tocopherol was not detected (Table 3). Previous studies have shown acorns are sources of γ -tocopherol to pigs raised extensively (Rey et al., 1998) and the γ -tocopherol content reported in this diet source was higher than in grass and mixed diets (Daza et al., 2005). Daza et al (2005) found lower γ -tocopherol contents (0.38 $\mu\text{g g}^{-1}$) in LD from Iberian free-range pigs than found in present study (0.58 $\mu\text{g g}^{-1}$). This could be partly due to differences in the analytical procedures, but also in the amount of acorns consumed by outdoors pigs, since acorn availability strongly depends upon climate conditions and specific features of the land. The presence of γ -tocopherol in LD muscle could be used as an indicator of the feeding background, identifying those pigs free reared and fed on acorns.

Total SFA, MUFA and PUFA from PL of LD muscle is shown in Table 3. Overall, the fatty acid composition of muscle PL tended to reflect that of the diets fed to the animals, whereas crossbreeding did not show any clear effect. SFA were significantly higher ($p<0.05$) and PUFA significantly lower ($p<0.05$) in PL from LD of free-range reared pigs than in pigs reared indoors (either HOVE or CON batches). On the other hand, MUFA from PL were significantly higher ($P<0.05$) in LD muscle from pigs fed with diet containing high oleic sunflower oil than pigs fed the CON diet. Free reared pigs showed intermediate levels of MUFA in muscle PL between those fed the high oleic concentrate and those fed a commercial CON diet. Nuernberg et al. (2005) have reported comparable results for fatty acid composition of LD muscle in pigs using olive oil as a source of dietary MUFA. On the other hand, Daza et al. (2005) did not find an increase in the proportion of MUFA in PL as a result of feeding diets rich in oleic acid. However, in the latter study the levels of MUFA in the diet were much lower than in the present study. Regarding the higher levels of MUFA in PL of free-range reared pigs compared with those fed a CON diet, similar results were reported by Cava et al (2000) in *Biceps femoris* from Iberian pigs. HOVE pigs and MON pigs had similar MUFA proportions in PL, reflecting the MUFA contents found in HOVE concentrates and acorns. Therefore, HOVE diets appear to be a successful strategy to achieve a MUFA profile similar to that of free-range reared pigs, which has been highlighted as one of the main reasons to explain the high quality of meat products elaborated from this type of animal (Cava et al., 1999; Ruiz, García, Muriel, Andres & Ventanas, 2002).

The ratio between total PUFA concentration from PL and α -tocopherol content in LD is shown in Table 3. This ratio has been suggested by as an indicator of the oxidative stability of muscle (Lauridsen et al., 2000). Pigs fed the CON diet showed the highest ratio ($P<0.05$) followed by pigs fed the HOVE diet, while pigs fed outdoors had the lowest ratio ($P<0.05$). Additionally, IBP pigs tended to present lower ratios than crossbreed pigs, but this could not be confirmed statistically. Cava et al. (2000) also described lower ratios PUFA/ α -tocopherol in pigs fed on acorns and grass than in either control or vitamin E supplemented pigs. In the present paper this trend was confirmed even though the mixed diets were enriched in MUFA. Thus, it seems that although MUFA enriched diets successfully achieve a fatty acid composition similar to that of traditionally free reared animals, the susceptibility of muscle to oxidation is lower in outdoor reared pigs.

Iron induced lipid oxidation in LD at different times of incubation (0, 50,100 and 200 minutes) expressed as nmoles of MDA per mg of protein, is presented in Figure 1.

Significant differences were detected at all sampling times during incubation, but only the differences found among groups at 200 minutes are shown with different letters in the Figure 1. LD from free-range reared pigs showed the lowest levels of MDA, although they did not show statistical differences ($P>0.05$) with animals from the IBP-HOVE batch. The rest of HOVE animals (IBxD and DxIB) showed significantly ($P<0.05$) higher values at this incubation time. Muscles from the CON animals had the significantly highest values of MDA ($P<0.05$). Therefore, both diet and crossbreeding seemed to affect the liability of muscle lipid to oxidation. First, diet showed a clear effect, both the supplementation with HOVE concentrates and the outdoors rearing contributing to lower susceptibility of muscle lipids to oxidation. This confirms the trends shown in the ratio between PUFA of PL and α -tocopherol. As far as crossbreeding is concerned, pure Iberian animals seemed to have a lower susceptibility to lipid oxidation, as can be deduced by the significantly lower values of the IBP-HOVE batch compared to the other two HOVE batches (IBxD and DxIB).

The susceptibility of muscle to lipid oxidation depends upon the balance between antioxidants (i.e. α -tocopherol content) and prooxidant (i.e. PUFA from PL) factors (Gandemer, 2002). The presence of higher levels of α -tocopherol and lower of PUFA from PL (although not to a significant extent) in LD from HOVE pigs, giving rise to significantly lower PUFA/ α -tocopherol ratios than in LD from control pigs, surely contributes to the lower amount of MDA in muscle homogenates after 200 minutes of incubation in HOVE pigs. The protective effect of α -tocopherol supplementation against iron induced lipid peroxidation have been previously described in Iberian pigs (Cava et al., 2000; Daza et al., 2005). In fact, a significant correlation between MDA content after 200 min of incubation and muscle α -tocopherol content (R^2 : -0.48 (minute 100) $p<0.01$ and R^2 : -0.32 (minute 200) $p<0.05$) was found (Table 4). Moreover, Pearson's coefficients obtained for MDA after 200min vs PUFA (R^2 : 0.52, $p<0.01$) and vs ratio PUFA/ α -tocopherol (R^2 : 0.65, $p<0.01$) suggest that not only does α -tocopherol content and PUFA from PL influence lipid oxidation, but also the ratio PUFA/ α -tocopherol content influences lipid oxidation in muscle.

The high level of IMF of the Iberian pure breed (Table 3), could partly explain the lower levels of MDA after 200 min of incubation found in LD homogenates in both IBP batches (IBP-HOVE and IBP-MON). Accordingly, Mason et al. (2005) and Nilzen, Babol, Dutta, Lundeheim, Enfält and Lundström (2001) reported a higher susceptibility to lipid oxidation in muscles from pigs with leaner carcasses. Muscles with high IMF content present

proportionally lower levels of lean, and therefore of phospholipids. It has been demonstrated that lipid oxidation in muscle foods is initiated and mainly takes place in membrane phospholipids (Igene & Pearson, 1979). Thus, proportionally lower levels of phospholipids due to high IMF content could involve a lower susceptibility to oxidation. In addition, the lower PUFA/ α -tocopherol ratios found in LD from IBP animals (Table 3) could also contribute to the lower susceptibility of LD muscle homogenates of IBP pigs.

Two oxidative parameters were measured in dry-cured-loin, TBARS and hexanal. Values of mg of MDA Kg⁻¹ of muscle and hexanal (Area Units) in dry cured loin are shown in Table 5.

Dry-cured loins from IBP-HOVE pigs had significantly ($p < 0.05$) higher values of TBARS than those from the other batches whereas the lowest levels were shown by DxIB-HOVE. Dry cured loins from pure Iberian pigs tended to show higher TBARS values than observed in those from crossbred pigs. Compared to CON pigs, neither free range rearing nor diets rich in vitamin E and oleic acid seemed to influence TBARS numbers. Results regarding TBARS analysis in dry-cured loins are in disagreement with those obtained on LD muscle, since a clear influence of vitamin E supplementation was observed in induced lipid peroxidation of LD muscle (Figure 1). Accordingly, Cava et al. (1999) did not find any influence of vitamin E supplementation on TBARS on Iberian dry-cured hams. MDA is not a stable compound, being highly reactive and remaining bound to other food components. In fact, during Iberian dry cured ham processing, an increase in TBARS values during the first steps of processing and a decrease in final steps have been reported (Andres et al., 2004; Cava et al., 1999). Several limitations have been described about using TBARS to determine lipid oxidation in dry cured products. The presence of residual nitrite in the samples from cured-products could lead to nitrosation of MDA, even at room temperature, making all or part of the MDA unreactive for TBARS determination, leading to TBA numbers lower than expected (Kolodziejska, Skonieczny & Rubin, 1990). Adding sulfanilamide which reacts with residual nitrite can prevent nitrosation of MDA (Fernandez, Perez-Alvarez & Fernandez-Lopez, 1997). However if there is a concentration of nitrite lower than 100 ppm, the addition of sulfanilamide may lead to an underestimation of TBARS because the MDA may condense with one or two molecules of this compound (Shahidi & Hong, 1991; Fernandez et al., 1997). An additional problem is that in dehydrated products, low TBARS have been described. Kwon & Watts (1964) suggested that in this situation MDA is in a “volatile chelated” form due to the low water content, and therefore not held in the product. Therefore, the use of TBA for measuring MDA levels in

a dehydrated cured product appears not to be satisfactory for assessing oxidation status. In addition, Kenaston, Wilbur, Ottolenghi and Bernheim (1955) reported that the TBA test was relatively insensitive for the detection of oxidation products from oleic acid (C18:1 n-9), which is the main fatty acid of Iberian products.

Although there were significant differences in hexanal content of dry cured loins between batches, neither the diet nor crossbreeding show a clear influence on this parameter (Table 5). In fact, the hexanal content of the dry cured loins did not show the same behavior as TBARS, despite both parameters being indicators of lipid oxidation. Moreover, neither showed the trends observed in the fresh LD, in the ratio PUFA from PL/ α -tocopherol content and in the susceptibility of muscle lipids to oxidation. Similarly to MDA, hexanal is also a reactive compound, and some authors have pointed out variations in hexanal content during the processing of dry cured hams as a consequence of interactions with other compounds (Andres et al., 2004). This could partly explain the lack of relationship between hexanal content and predictors of lipid oxidation susceptibility in fresh meat.

Values of protein oxidation in LD muscle and dry cured loin expressed as carbonyl content (nmoles carbonyls \cdot mg⁻¹ protein) are shown in Table 6. LD muscles from IBP-MON pigs showed lower values of protein carbonyl compounds than LD from CON pigs ($P < 0.05$) and no statistical differences were found compared to samples from HOVE pigs. Samples from HOVE diets had intermediate values, but did not show significant differences with control or free range ones. Crossbreeding did not show any significant effect. As far as dry cured loin is concerned, the trend was similar to that observed in fresh LD, with those from HOVE pigs showing values in between those from CON pigs and those from free reared ones.

An increase in carbonyl content from LD to dry cured loins was found in all batches, most likely due to the prooxidative conditions during the ripening process. Observed values of protein carbonyl compounds were similar to those previously reported in LD from beef (3 nmoles of DNPH/mg protein) (Mercier, Gatellier & Renner, 2004), *M. pectoralis* from turkey (1.1-3.41 nmoles /mg protein) (Mercier, Gatellier, Viau, Remignon & Renner, 1998) and chicken muscle (1.5 nmoles /mg protein) (Liu & Xiong, 1996).

As far as we know, the present study is the first data to show protein oxidation in raw meat from Iberian pig and in dry-cured meat products takes place. Estevez and Cava, (2004) reported lower values of carbonyl products in liver p ate from Iberian pigs compared to p at es from commercial pigs. Other authors have also shown increasing levels of protein

oxidation throughout processing in raw meat and cooked products (Rowe et al., 2004; Estevez et al., 2004).

As described for induced lipid oxidation of LD, a protective effect of vitamin E supplementation against protein oxidation was observed. These results are agreement with other authors who have reported a decrease in protein carbonyl compounds formation in stored *M. sartorius* of turkey (Mercier et al., 1998) and in oxidized microsomes of turkey muscle (Batifoulier, Mercier, Gatellier & Renerre, 2002) as a consequence of vitamin E supplementation in the diet, but this is the first study in which this effect is shown for dry-cured meat products.

Though LD from IBP-MON pigs showed a low α -tocopherol content, the detected levels of γ -tocopherol found in these samples (Table 3), together with the probable presence of other antioxidants such as carotenoids, flavonoids or polyphenols could have helped to protect meat from these animals against lipid and protein oxidation. These types of antioxidant compounds have been reported in grass and acorns (Cantos, Espin, Lopez-Bote, de la Hoz, Ordoñez & Tomas-Barberan, 2003) and some authors have even found higher contents of total polyphenols in fat from free reared Iberian pigs than in those fed on concentrates (Gonzalez, Tejada, Moltiva & Romero, 2004)

Several authors have suggested a possible correlation between lipid and protein oxidation (Estevez et al., 2004; Mercier et al., 1998, 2004; Viljanen et al., 2004). Table 7 shows Pearson's correlation coefficients between levels of MDA in induced lipid peroxidation of LD muscle at minute 200, TBARS and hexanal content of dry cured loin and protein oxidation in LD and dry cured loin. A significant correlation ($R^2= 0.55$ $p<0.01$ for LD and $R^2= 0.53$ $p<0.01$ for dry cured loin) with MDA at minute 200 was observed, whereas neither TBARS nor hexanal showed a significant correlation. Both primary (hydroperoxides) and secondary (aldehydes and ketones) lipid oxidation products can react with proteins and in that way cause protein oxidation (Kikugawa, Kato & Hayasaka, 1991). Particularly, exogenous carbonyls can be introduced into proteins by reactions of 4-OH-nonenal, a product of lipid oxidation, with residues of lysine, histidine or cysteine (Xiong, 2000). The carbonyl complexes due to protein-lipid interaction are rapidly formed and are relatively stable, these protein carbonyl compounds being convenient markers of protein oxidation (Viljanen et al., 2004).

Additionally, the correlation coefficients between protein oxidation in LD and dry cured loin and PUFA from PL and ratio PUFA / α -tocopherol were high and significant except

for LD and PUFA (Table 7). These correlations reinforce the link between lipid and protein oxidation. Furthermore, all these parameters (MDA in induced iron lipid oxidation, PUFA from PL and ratio PUFA / α -tocopherol) seem to be suitable methods to predict not only the oxidative stability of lipids in muscle foods, but also that of proteins. From these correlations, it seems clear that diets rich in MUFA and supplemented with α -tocopherol are more effective in preventing lipid and protein oxidation in muscle foods than each strategy separately.

II.4. CONCLUSIONS

It can be concluded that dietary fat source and vitamin E supplementation influences the susceptibility of muscle lipid to undergo oxidative reactions. As far as we know, this study reports for the first time information concerning protein oxidation in dry cured products suggesting that during the ripening of these products oxidation processes not only affect lipids but also proteins. Diets enriched with high oleic sunflower oil together with 250 ppm vitamin E appears to be a successful strategy to inhibit the development of lipid and protein oxidation in porcine muscles and dry-cured loins. In addition, the relationship between lipid and protein oxidation was confirmed. Finally, the ratio PUFA from PL/ α -tocopherol content and MDA values from induced lipid oxidation seem to be suitable indicators of both lipid and protein oxidation susceptibility in LD and dry-cured loin.

II.5. REFERENCES

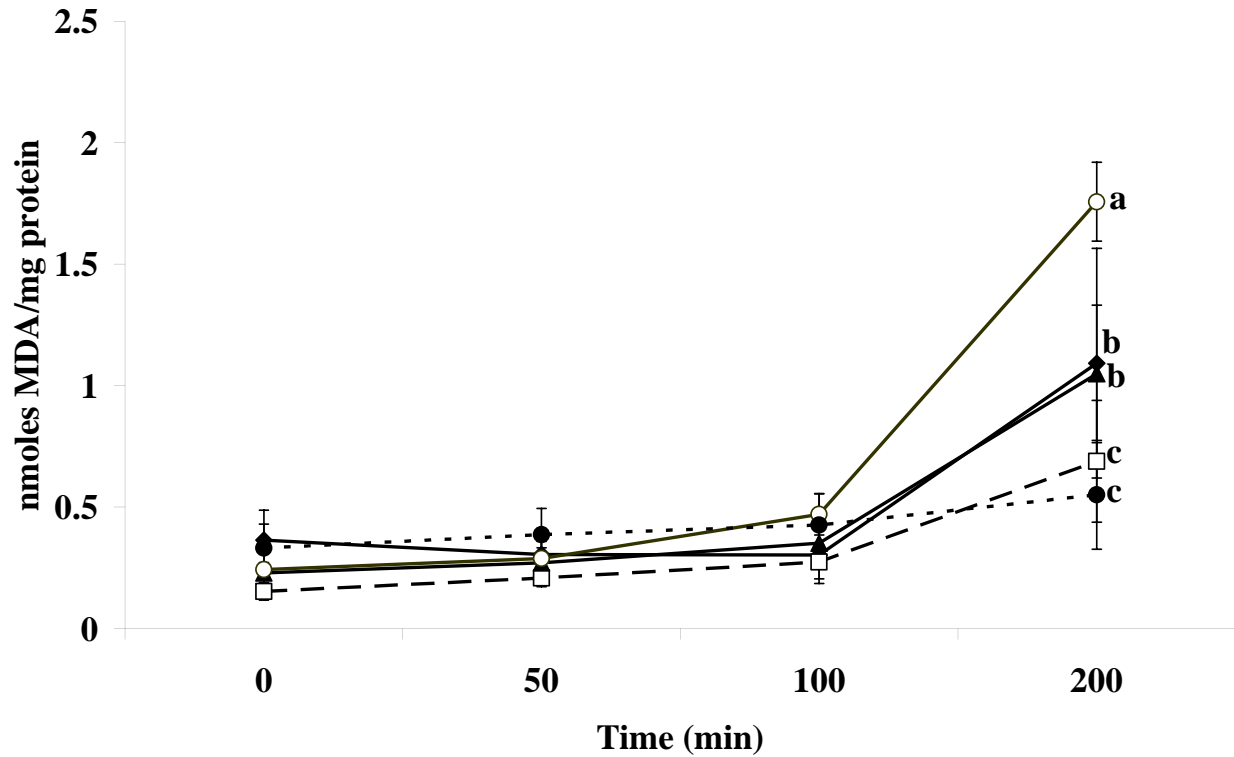
- Andres, A. I., Cava, R., Ventanas, J., Muriel, E., & Ruiz J. (2004). Lipid oxidative changes throughout the ripening of dry-cured Iberian hams with different salts contents and processing conditions. *Food Chemistry*, 84, 375-381.
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists. (1990). Official Methods of Analysis. In: S. Williams. Arlington V.A. Association of Official Analytical Chemists..
- Batifoulier, F., Mercier, Y., Gatellier, P., & Renner, M. (2002). Influence of vitamin E on lipid and protein oxidation induced by H₂O₂-activated MetMb in microsomal membranes from turkey muscle. *Meat Science*, 61, 389-395.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
- Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. In S. Fleischer & L. Parker (Eds). *Methods in enzymology* (vol. 52) (pp. 302). New York. Academic Press.

- Cantos, E., Espín, J. C., Lopez-Bote, C. J., de la Hoz, L., Ordoñez, J. A., & Tomas-Barberan, A. T. (2003). Phenolic compounds and fatty acids for acorns (*Quercus spp.*), the main dietary constituent of Free-range Iberian Pigs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6248-6255.
- Carrapiso, A. I., Ventanas, J., & Garcia, C. (2002). Characterization of the Most Odor Active compounds of Iberian ham headspace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1996-2000.
- 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.
- Cava, R.; Ventanas, J.; Tejada, J. F.; Ruiz, J., & Antequera, T. (2000). Effect of free-range rearing and α -tocopherol and copper supplementation on fatty acid profiles and susceptibility to lipid oxidation of fresh meat from Iberian pigs. *Food Chemistry*, 68, 51-59.
- Daza, A., Rey, A. I., Ruiz, J., & Lopez-Bote, C. (2005). Effects of feeding in free-range conditions or in confinement with different dietary MUFA/PUFA ratios and α -tocopheryl acetate, on antioxidants accumulation and oxidative stability in Iberian pigs. *Meat Science*, 69, 151-163.
- Decker, E. A., Xiong, Y. L., Calvert, J. T., Crum, A. D., & Blanchart, S. P. (1993). Chemical, physical and functional properties of oxidized turkey white muscle myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 186-189.
- Dobao, M. T., Rodriganez, J., & Silio, L. (1986). Heritability of a canalized trait-teat number in Iberian pigs. *Genetique Seletion Evolution*, 18, 173-186.
- Estevez, M., & Cava, R. (2004). Lipid and protein oxidation, release of iron from heme molecule and colour deterioration during refrigerated storage of liver pâté. *Meat Science*, 68, 551-558.
- Fernandez, J., Perez-Alvarez, J. A., & Fernandez-Lopez, J. A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, 59 (3), 345-353.
- Gandemer, G. (2002). Lipids in muscle and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62, 309-321.
- Gonzalez, E., Tejada, J. F., Moltiva, M. J., & Romero, M. P. (2004). Phenolic compounds in subcutaneous adipose tissue from Iberian pigs. In *Proceedings 5ème Symposium. International sur le Porc Méditerranéen* (pp. 31).16-19 November, 2004, Tarbes, France.
- Igene, J. O., & Pearson, A. M. (1979). Role of phospholipids and triglycerides in warmed-over-flavor development in meat model systems. *Journal of Food Science*, 44, 1285-1290.
- Kenaston, C. B., Wilbur, K. M., Ottolenghi, A., & Bernheim, F. (1955). Comparison of methods for determining fatty acid oxidation produced by ultraviolet irradiation. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 32, 33-35.
- Kikugawa, K., Kato, T., & Hayasaka, A. (1991). Formation of dityrosine and other fluorescent amino acids by reaction of amino acids with lipid hydroperoxides. *Lipids*, 26, 922-929.
- Kolodziejska, Y., Skonieczny, S., & Rubin, L. J. (1990). Malonaldehyde-nitrite interactions in meat and model systems. *Journal of Food Science*, 55, 925-928.
- Kornbrust, D. J., & Mavis, R. D. (1980). Relative susceptibility of microsomes from lung, heart, liver, kidney, brain and testes to lipid peroxidation: Correlation with vitamin E. *Lipids*, 15, 315.

- Kwon, T., & Watts, B. M. (1964). Malonaldehyde in aqueous solution and its role as a measure of lipid oxidation. *Journal of Food Science*, 29, 294-302.
- Lauridsen, C., Soren Krogh, J., Skibsted, L. H., & Bertelsen, G. (2000). Influence of supranutritional vitamin E and copper on α -tocopherol deposition and susceptibility to lipid oxidation of porcine membranal fractions of *M. Psoas* major and *M. Longissimus dorsi*. *Meat Science*, 54, 377-384.
- Liu, G., & Xiong, Y. L. (1996). Contribution of lipid and protein oxidation to rheological differences between chicken white and red muscle myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 779-784.
- Lopez-Bote C. J. (1998). Sustained utilization of the Iberian Pig Breed. *Meat science*, 49 (1), 17-27.
- Lowry, M. O., Rosenberg, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with folin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Lynch, A., Kerry, J. P., Buckley, D. J., Morrissey, P. A., & Lopez-Bote, C. (2001). Use of high pressure liquid chromatography (HPLC) for the determination of α -tocopherol levels in forage (silage/grass) samples collected from different regions in Ireland. *Food Chemistry*, 72, 521-524.
- Mason, L. M., Hogan, S. A., Lynch, A., O'Sullivan, K., Lawlor, P. G., & Kerry, J. P. (2005). Effects of restricted feeding and antioxidant supplementation on pig performance and quality characteristics of *Longissimus dorsi* muscle from Landrace and Duroc pigs. *Meat Science*, 70, 307-317.
- Mercier, Y., Gatellier, P., & Renerre, M. (2004). Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. *Meat Science*, 66, 467-473.
- Mercier, Y., Gatellier, P., Viau, M., Remignon, H., & Renerre, M. (1998). Effect of fat and vitamin E on colour stability and lipid and protein oxidation in turkey meat during storage. *Meat Science*, 48, 301-318.
- Morrissey, P. A., Sheehy, P. J. A., Galvin, K., Kerry, J. P., & Buckley, D. J. (1998). Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, 49, 73-86.
- Muriel, E., Ruiz, J., Ventanas, J., & Antequera, T. (2002). Free-range rearing increase (n-3) polyunsaturated fatty acids of neutral and polar lipids in swine muscles. *Food Chemistry*, 78, 219-225.
- Nilzen, V., Babol, J., Dutta, P. C., Lundeheim, N., Enfält, A. C., & Lundström K. (2001). Free range rearing of pigs with access to pasture grazing – effect on fatty composition and lipid oxidation products. *Meat Science*, 58, 267-275.
- Nuernberg, K., Fischer, K., Nuernberg, G., Kruechenmeister, U., Klosowaska, D., Eliminowska-Wenda, G., Fiedler, I., & Ender, K. (2005). Effects of dietary olive and linseed oil on lipid composition, meat quality, sensory characteristics and muscle structure in pigs. *Meat Science*, 70, 63-74.
- Oliver, C. N., Ahn, B. W., Moerman, E. J., Goldstein, S., & Stadtman, E. R. (1987). Aged-related changes in oxidized proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 262, 5488-5491.
- Rey, A., Lopez-Bote, C., Soares, M., & Isabel, B. (1996). Determination of α -tocopherol in pork with high intramuscular fat content. *Grasas y Aceites*, 47, 331-334.
- Rey, A. I., Isabel, B., Cava, R., & Lopez-Bote, C. J. (1998). Dietary acorns provide a source of gamma-tocopherol to pigs raised extensively. *Canadian Journal of Animal Science*. 78, 441-443.
- Rowe L. J., Maddock K. R., Lonergan S. M., & Huff-Lonergan E. (2004). Influence of early post-mortem protein oxidation on beef quality. *Journal of Animal Science*, 82, 785-793.

- Ruiz, J., Antequera, T., Andres, A.I., Petron, M.J., & Muriel E. (2004) Improvement of a solid phase extraction method for analysis of triacylglycerols in muscle foods. *Analytica Chimica Acta*, 520, 201-205.
- Ruiz, J., Cava, R., Antequera, T., Martín, L., Ventanas, J., & Lopez-Bote, C. (1998). Prediction of the feeding background of Iberian pigs using the fatty acid profile of subcutaneous, muscle and hepatic fat. *Meat Science*, 49(2), 155-163.
- Ruiz, J., García, C., Muriel, E., Andres A.I., & Ventanas, J. (2002). Influence on sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science*, 61 (4), 247-354.
- Salih, A. M., Smith, D. M., Price, J. F., & Dawson, L. E. (1987). Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poultry Science*, 66, 1483-1489.
- Sandler, S. R., & Karo, W. (1992). Source book of advances organic laboratory preparations. Academic Press, San Diego.
- Schaich, K.M. (1980). Free radical initiation in proteins and amino acids by ionizing and ultraviolet radiations and lipid oxidation. III: Free radical transfer from oxidizing lipids. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 13, 189-244.
- Shahidi, F., & Hong, C. (1991). Evaluation of malonaldehyde as a marker of oxidative rancidity in meat products. *Journal of Biochemistry*, 15, 97-105.
- SPSS (1997). SPSS for Windows: advanced statistic release, Chicago. SPSS.
- Viljanen K, Kylli P, Kivikari R, & Heinonen M. (2004). Inhibition of protein and lipid oxidation in liposomes by berry phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7419-7424.
- Xiong, Y. L. (2000). Protein oxidation and implications for muscle foods quality. In E.A. Decker, C. Faustman & C.J. Lopez-Bote (Eds.), *Antioxidants in muscle foods*. (pp. 85-111). New York: Wiley.

Figure 1. Iron induced lipid oxidation in *Longissimus dorsi* from IBP pigs reared on MON system (●), IBP pigs fed with HOVE mixed diet (enriched with high oleic sunflower oil and supplemented with 250 ppm of vitamin E) (□), IBxD pigs fed with HOVE mixed diets (◆), DxIB pigs fed with HOVE mixed diet (▲) and IBxD fed on CON diet (control concentrates) (○).



Means with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

Table 1. Experimental design, showing batch names with the respective diet received by animals and the genetic background of the pigs.

	EXPERIMENTAL DIET			BREED		
	INDOORS		OUTDOORS	Iberian pure	♀IBxD	♀DxIB
	HOVE	Control	Acorns and grass			
IBxD-CON (n=13)		•			•	
IBxD-HOVE(n=11)	•				•	
DxIB-HOVE(n=13)	•					•
IB-HOVE (n=12)	•			•		
IBP-MON (n=12)			•	•		

Table 2. Proximate chemical compositions and fatty acid profiles of mixed diets (HOVE and Control), grass and acorns.

	INDOORS		OUTDOORS	
	HOVE	CONTROL	GRASS	ACORNS
Dry matter	90.54	88.66	10.76	53.9
Ash (% DM) ¹	4.62	3.95	13.47	2.17
Crude protein (% DM)	16.95	16.72	21.75	8.05
Crude fibre (%DM)	5.69	3.29	20.2	1.87
Fat (% DM)	8.29	3.55	3.07	7.18
NFE (% DM) ²	64.45	72.49	46.52	80.73
ΣSFA	11.06	25.05	21.68	12.09
ΣMUFA	67.32	32.32	7.35	66.88
ΣPUFA	21.62	42.62	70.97	21.04

¹ DM, dry matter.

² NFE, nitrogen-free extractives.

HOVE diet containing (mg Kg⁻¹ of diet): barley 48 x 10⁴, wheat 15 x 10⁴, bran 15 x 10⁴, soybean meal 8.5 x 10⁴, beet pulped 5 x 10⁴, sunflower high oleic 5.75 x 10⁴, calcium carbonate 9 x 10³, calcium phosphate 7 x 10³, sodium chloride 4 x 10³, corrector 5 x 10³, mix vit E 250.

Control diet containing (mg Kg⁻¹ of diet): barley 15 x 10⁴, wheat 50 x 10⁴, corn 20 x 10⁴, soybean meal 1.1 x 10⁴, lard 1.2 x 10⁴, calcium carbonate 8 x 10³, calcium phosphate 1.1 x 10⁴, sodium chloride 4 x 10³ and corrector 5 x 10³.

Table 3. Intramuscular fat contents (%), fatty acid profiles from PL (sum of total proportion of SFA, MUFA and PUFA), α and γ -tocopherol contents ($\mu\text{g/g}$), and ratio of the total amount of PUFA from PL/ α -tocopherol content ($\text{g}/\mu\text{g}$) of LD. Values are means \pm standard deviation.

	IBxD-CON	IBxD-HOVE	DxIB-HOVE	IBP-HOVE	IBP-MON
IMF	2.70 ^b \pm 0.69	3.16 ^{ab} \pm 0.76	2.53 ^b \pm 1.06	3.95 ^a \pm 1.43	4.18 ^a \pm 1.58
Σ SFA	31.27 ^b \pm 5.18	29.37 ^b \pm 2.20	28.28 ^b \pm 2.80	31.25 ^b \pm 4.49	43.64 ^a \pm 5.03
Σ MUFA	16.35 ^b \pm 5.96	21.47 ^a \pm 1.68	21.9 ^a \pm 4.65	21.76 ^a \pm 2.82	20.59 ^{ab} \pm 4.85
Σ PUFA	52.38 ^a \pm 8.81	49.17 ^a \pm 2.69	49.83 ^a \pm 6.74	46.98 ^a \pm 5.09	34.65 ^b \pm 5.62
α -tocopherol	1.38 ^b \pm 0.29	2.94 ^a \pm 0.48	2.90 ^a \pm 0.50	3.11 ^a \pm 0.43	1.81 ^b \pm 0.76
γ -tocopherol	nd	nd	nd	nd	0.58 \pm 0.18
Σ PUFA/ α -tocopherol	1.01 ^a \pm 0.38	0.51 ^{bc} \pm 0.31	0.67 ^b \pm 0.22	0.47 ^{bc} \pm 0.12	0.25 ^c \pm 0.10

Means with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

nd: not detected (< 0.09)

Table 4. Pearson's correlation coefficients (R^2) between MDA values in LD (iron induced lipid oxidation), TBARS values and hexanal contents in dry-cured loins and total PUFA from PL, α -tocopherol and ratio of the total amount of PUFA from PL/ α -tocopherol in LD.

	IRON INDUCED LIPID OXIDATION				TBARS	HEXANAL
	(min)					
	0	50	100	200		
PUFA from PL fraction	-0.30*	-0.42**	-0.11	0.52**	-0.22	-0.14
α -tocopherol	-0.24	-0.24	-0.48**	-0.32*	0.03	0.12
PUFA/ α -tocopherol	-0.14	-0.15	0.27	0.65**	-0.12	-0.07

* ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$),

Table 5. Hexanal contents (area in A.U.x10⁸) and TBARS values (mg MDA/kg muscle) in dry-cured loin. Values are means \pm standard deviation.

	IBxD-CON	IBxD-HOVE	DxIB-HOVE	IBP-HOVE	IBP-MON
TBA	0.85 ^{bc} \pm 0.20	0.74 ^{bc} \pm 0.14	0.67 ^c \pm 0.16	1.24 ^a \pm 0.25	0.90 ^b \pm 0.11
HEXANAL	2.44 ^{ab} \pm 0.86	3.27 ^a \pm 0.40	1.55 ^b \pm 0.72	3.31 ^a \pm 1.74	2.40 ^{ab} \pm 0.63

Means with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

Table 6.- Carbonyl content (nmoles/mg protein) in LD and dry cured loins from IBP pigs reared in MON system, and IBP, DxIB and IBxD pigs reared in confinement with HOVE mixed diet or CON mixed diet. Values are means \pm standard deviation.

	IBxD-CON	IBxD-HOVE	DxIB-HOVE	IBP-HOVE	IBP-MON
LD	1.56 ^a \pm 0.16	1.37 ^{ab} \pm 0.21	1.29 ^{ab} \pm 0.23	1.30 ^{ab} \pm 0.36	1.03 ^b \pm 0.16
Dry-cured loin	2.43 ^a \pm 0.19	1.41 ^{cd} \pm 0.34	2.00 ^{ab} \pm 0.17	1.85 ^{bc} \pm 0.32	1.38 ^d \pm 0.29

Means with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

Table 7.- Pearson's correlation coefficients (R^2) between protein oxidation values in both LD and dry-cured loin and MDA contents, total PUFA from PL and α -tocopherol in LD, and TBA numbers and hexanal contents in dry-cured loin.

	PROTEIN OXIDATION	
	LD	Dry-cured loin
MDA values ¹	0.55**	0.52**
PUFA from PL fraction	0.25	0.51**
α -tocopherol	-0.24	-0.33
PUFA/ α -tocopherol	0.62**	0.63**
TBARS	-0.02	0.06
HEXANAL	0.11	-0.21

¹Minute 200

CAPÍTULO III

CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL LOMO CURADO DE CERDO IBÉRICO

RESUMEN

Se estudiaron las características físico-químicas y la evolución del porcentaje de mermas durante la fase de secado-maduración de lomos curados procedentes de 5 lotes diferentes de animales: cerdos de raza Ibérica pura (IB) o cruzados con Duroc (de madre Ibérica (IBxD) o de madre Duroc (DxIB)) explotados en extensivo en régimen de montanera (MON) o en intensivo con piensos comerciales (CON) o con piensos enriquecidos con girasol alto oleico y suplementados con α -tocoferol (AOVE). El porcentaje de mermas acumuladas aumentó a lo largo del procesado como consecuencia del incremento de la temperatura y el descenso de la humedad relativa (HR). El procesado produjo igualmente una disminución en el contenido en lípidos totales y en colesterol, pero no así en el contenido en tocoferol. El lote de lomos curados de cerdos de montanera (IB-MON) fue el que presentó un menor porcentaje de mermas, una menor coloración roja (medido instrumentalmente como valores más bajos de la coordenada de color a^*) y un mayor contenido en cloruros, en mioglobina y en hierro hemínico en comparación con el resto de lotes. La genética influyó en el contenido en grasa intramuscular (GIM) que fue superior en los lomos de los dos lotes de cerdos de raza Ibérica pura (IB-AOVE e IB-MON). La alimentación recibida por los animales determinó que el contenido en α -tocoferol fuera superior en los lomos curados de los lotes procedentes de cerdos alimentados con piensos suplementados con este elemento (AOVE), mientras que el contenido en γ -tocoferol fue superior en los lomos curados de cerdos de montanera (IB-MON). Desde el punto de vista de las implicaciones en la salud del consumidor, el perfil de ácidos grasos de la fracción de lípidos neutros de la GIM (elevada proporción en AGMI), los valores obtenidos para determinados cocientes de ácidos grasos (AGPI/AGS, ácidos grasos hipocolesterolémicos (h)/ ácidos grasos hipercolesterolémicos (H)) así como el contenido en colesterol (en torno a 43 mg 100 g⁻¹ de muestra) hacen del lomo Ibérico un alimento adecuado para su inclusión en dietas consideradas como saludables.

Palabras clave: Lomo Curado, Mermas, Color, Ácidos Grasos, Cocientes Nutricionales, colesterol, α - y γ -tocoferol.

III.1. INTRODUCCIÓN

Los productos derivados del cerdo Ibérico se caracterizan por su elevada calidad sensorial, resultado de un efecto combinado de las características de la materia prima de partida

(entre las que destacan el contenido y composición de la grasa intramuscular GIM)), y de las condiciones del proceso de elaboración (tiempo de procesado, condiciones de temperatura, efecto de la incorporación de adobo...), donde además de un salazonado y deshidratación hay una maduración, que implica profundas transformaciones físicas y químicas de las piezas.

Además de la calidad sensorial, los consumidores conceden cada vez mayor importancia a las implicaciones sobre la salud de los productos cárnicos y concretamente a factores relacionados con la composición en ácidos grasos y con el contenido en colesterol. En las sociedades occidentales, los consumidores son muy conscientes de la relación dieta-salud, lo que ha supuesto que la presencia en el etiquetado de una información nutricional exhaustiva y científicamente probada de los alimentos, sea un requisito demandado y exigido. En este sentido, la Unión Europea ha planteado una propuesta para la regulación del etiquetado nutricional (EU Comisión, 2003) así como para el empleo de determinados términos y alegaciones nutricionales como “contenido reducido en calorías” o “bajo contenido en grasa”. Teniendo en cuenta las características de los productos cárnicos curados, en concreto del jamón curado, parece que la utilización de estas denominaciones en el etiquetado nutricional será posible, siendo el contenido en cloruro sódico el factor que podría presentar mayores limitaciones (Honikel., 2005).

La industria cárnica ha experimentado un considerable debilitamiento de su imagen ante los consumidores como consecuencia de la asociación del consumo de carne y productos cárnicos con el riesgo de padecer ciertas enfermedades coronarias, cáncer y obesidad. En los países occidentales la carne y los productos cárnicos son considerados las principales fuente de grasa de la dieta y en especial de grasa saturadas (Jiménez Colmenero, 2000). De acuerdo con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2003) y más recientemente con las establecidas en la “Dietary Guidelines for America” (U. S. Department of Health and Human Services (HHS) and Department of Agriculture (USDA) 2005), la grasa debe aportar entre el 15 y el 30% de las calorías de la dieta y las grasas saturadas no deben suponer más del 10% de este aporte calórico. No obstante, no hay que olvidar que la carne y sus derivados son componentes esenciales de la dieta en los países occidentales, siendo una fuente muy importante de proteínas de alto valor biológico así como de hierro y aminoácidos esenciales (Valsta y cols., 2005).

No sólo el contenido graso, del alimento tiene repercusiones sustanciales sobre la salud del consumidor, también la composición en ácidos grasos es un factor determinante, al afectar de diferente manera a los niveles de las lipoproteínas-colesterol plasmáticas, que se

relacionana a su vez con el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. La presencia de altos niveles de ácidos grasos saturados (AGS) en la dieta incrementan los niveles de colesterol plasmáticos, mientras que dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) reducen ligeramente los niveles de colesterol plasmático a través de una disminución de las lipoproteínas de baja densidad (LDL-colesterol) que parecen ser las más directamente implicadas en la formación de la placa ateromatosa. Por último, el consumo de AGPI parece disminuir de una manera más marcada los niveles de colesterol en sangre, a través de una reducción de los niveles tanto del LDL-colesterol, como de las lipoproteínas de alta densidad (HDL-colesterol), las cuales parecen ejercer un efecto protector en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, ya que están implicadas en el transporte del LDL-colesterol depositado en las arterias hasta el hígado para su eliminación, reduciendo los riesgos de trombosis arterial y de infarto (Mattson y Grundy, 1985). En este sentido las organizaciones internacionales han establecido una serie de cocientes recomendados (AGPI/AGS, AGPI n-6/n-3) que relacionan los diferentes ácidos grasos del alimento entre sí. Estos cocientes, así como otros índices nutricionales se han venido empleando en numeroso estudios científicos recientes en los que se han evaluado diferentes productos cárnicos desde el punto de vista de la calidad nutricional y las potenciales implicaciones sobre la salud (Badiani y cols., 2002; Serrano y cols. 2005; Fernández y cols., 2006).

El elevado contenido graso (principalmente de GIM) de los jamones y lomos derivados del cerdo Ibérico en comparación con derivados del cerdo blanco, reflejado en un veteado más evidente, un aroma más intenso y una mayor jugosidad, es uno de los factores determinantes de la elevada calidad sensorial de estos productos para los consumidores (Ruiz y cols., 2002). Este efecto determina que en los productos del Ibérico, por lo general, los consumidores obvian las posibles implicaciones del consumo de grasa sobre la salud. Por otra parte, estos productos mantienen una imagen de productos “saludables” ante el consumidor, debido a los elevados niveles de los AGMI, principalmente de ácido oleico (C18:1 n-9), asociado a la ingesta de bellotas durante la etapa de cebo de los animales en montanera.

En los últimos años, una de las estrategias más extendidas para mejorar el perfil de ácidos grasos de los cerdos Ibéricos cebados en intensivo ha sido el empleo de piensos enriquecidos en AGMI. Aunque el objetivo perseguido con el empleo de estos piensos no es mejorar la implicaciones sobre la salud de los productos a través de aumentar los niveles de AGMI, este es un factor colateral que no ha sido estudiado hasta la fecha.

En el presente capítulo se planteó como principal objetivo el estudio del efecto de la genética y de la alimentación recibida por los animales durante la fase de cebo sobre las características físico-químicas del lomo curado de cerdo Ibérico. Por otra parte, se llevaron a cabo una serie de consideraciones desde el punto de vista de las implicaciones sobre la salud en relación a la composición en ácidos grasos y al contenido en colesterol del lomo de cerdo Ibérico.

III.2. MATERIAL Y MÉTODOS

III.2.1. Material biológico

Para la realización del presente estudio se emplearon muestras de lomo curado y músculo *l. dorsi* procedentes de 5 lotes diferenciados en función de la genética y alimentación de los animales durante la fase de cebo (consultar diseño experimental): cerdos de raza Ibérica pura explotados en régimen de montanera alimentándose exclusivamente de hierba y bellotas (lote IB-MON) o explotados en intensivo y alimentados con un pienso enriquecido con girasol alto oleico y suplementado con 250 ppm de α -tocoferol (AOVE) (lote IB-AOVE); cerdos cruzados (Ibérico x Duroc, 50%) de madre de raza Ibérica pura explotados en intensivo con pienso AOVE (lote IBxD-AOVE) o con un pienso control (lote IBxD-CON). Por último músculo *l. dorsi* y lomos curados procedentes de cerdos cruzados (Duroc x Ibérico, 50%) de madre de raza Duroc cebados en régimen intensivo con pienso AOVE (DxIB-AOVE).

III.2.2. Procesado de los lomos

Tras el sacrificio de los animales, se procesó la parte caudal del músculo *l. dorsi*. Tras una primera etapa de salado en bombo, los lomos permanecieron 1 día en cámaras a 4°C para conseguir una adecuada penetración de la mezcla hacia el interior del producto. Durante la fase de salado-adobo de las piezas no se incluyó pimentón, ajo, aceite ni otro tipo de condimentos o especias. La mezcla empleada para el salado de las piezas incluía únicamente sal (2.5%), agua (1%), azúcar (0.7%) y nitritos (150 ppm). Al término de este periodo las piezas se embutieron en tripas artificiales de colágeno y se mantuvieron a refrigeración durante 30 días adicionales. Por último, la etapa de secado-maduración tuvo lugar en secaderos pilotos (cámaras artificiales), en la Unidad de Tecnología de los Alimentos del Departamento de Zootecnia de la Universidad de Extremadura durante un periodo de 60 días más en unas condiciones termo higrométricas controladas (4-16 °C y 65-75% de humedad relativa).

III.2.3. Cálculo de las mermas durante el procesado

Para el cálculo de las mermas de los lomos durante el procesado se pesaron todas las piezas en diferentes momentos del proceso de elaboración: antes del adobo en bombo, a los 30, 39, 52, 66,80 y 101 días.

$$\% \text{ mermas} = ((p_i - p_n) / p_i) * 100$$

p_n = peso del lomo en cada día de pesada

p_i = peso inicial

III.2.4. Composición química del lomo curado

La extracción y cuantificación de la grasa intramuscular de los lomos curados fue realizada por el método descrito por Bligh y Dyer (1959), utilizando cloroformo: metanol (1:2) como disolvente. La cantidad de muestra necesaria para el análisis se tomó de la parte central de los lomos curados.

La determinación de la humedad (%) de las muestras de lomo curado se realizó mediante desecación en estufa (103°C), partiendo de 5 gramos de muestra de lomo curado que se mezcló con 5 ml de etanol en cápsulas de humedad (AOAC, 1984).

La determinación del nitrógeno total de las muestras (1 gramo) se realizó por el método Kjeldahl (AOAC, 1984) que incluye una fase de digestión (con ácido sulfúrico) realizada con un digestor Büchi (modelo II-425), una fase de destilación (con hidróxido sódico) con un destilador Büchi (modelo 426) y una valoración final del contenido en nitrógeno con ácido clorhídrico 0.1N. El contenido en proteína se obtuvo multiplicando el valor hallado en la determinación de nitrógeno total por 6.25.

El contenido en cloruro sódico de los extractos de lomo curado (10 ml) se determinó mediante el método de Volhard (AOAC, 1984) utilizando como reactivos una solución de nitrato de plata 0.1N (10 ml), una solución de ácido nítrico concentrado (1ml), una solución de sulfato férrico al 4% (1 ml), nitrobenceno y sulfocianuro potásico 0.1N para la valoración final del exceso de plata. Para la obtención del extracto se partió de 10 gramos de muestra homogenizada a los que se les añadieron 150 ml de alcohol (40%) y se mantuvo en agitación con calor (60°C) durante aproximadamente una hora. Posteriormente se añadieron los reactivos de Carrez (solución acuosa de ferrocianuro potásico al 15% y solución acuosa de acetato de Zinc al 30%), se centrifugó (5 min, 2000 rpm) en una centrífuga Beckman (modelo J2-21), se filtró a un matraz y se evaporó en un vaso de precipitado hasta que quedaron unos 100 ml que se enrasaron hasta 200 ml con agua destilada.

III.2.5. Determinación del contenido en pigmentos hemínicos (color químico) y medidas del color instrumental en el lomo curado

Para la extracción y cuantificación de los pigmentos hemínicos en las muestras de lomo curado se empleó el método descrito por Hornsey (1956). Se partió de 5 gramos de muestra previamente triturada que se introdujo en un matraz erlenmeyer de boca esmerilada, al que se añadieron 20 ml de acetona y 3.5 ml de agua destilada. Posteriormente, y tras agitar, se añadieron 0.5 ml de ácido clorhídrico 12M, se homogenizó y se tapó el matraz erlenmeyer, manteniéndolo durante 12 horas a refrigeración y en oscuridad. Tras filtrar el homogenizado se midió la absorbancia a 640 nm utilizando como blanco una mezcla de acetona: agua: HCL, en un espectrofotómetro Hitachi (modelo U-2000). Para obtener el contenido en hematina en p.p.m (a) se multiplicó el valor de la absorbancia (Abs) por 680. Por último este resultado se multiplicó por el factor 0.026 (resulta del cociente del peso molecular hematina/mioglobina) para obtener la concentración de mioglobina expresada en mg de mioglobina g⁻¹ de muestra. Para calcular el contenido en hierro hemínico (ppm) se multiplicó el valor calculado de la hematina (a) por 8.82 y se dividió entre 100.

$$\text{Hematina (ppm) (a)} = \text{Abs (640 nm)} \times 680$$

$$\text{Hierro hemínico (ppm)} = (\text{a} \times 8.82) / 100$$

$$\text{Concentración de mioglobina (mg g}^{-1}\text{ de muestra)} = \text{a} \times 0.026$$

Para realizar las medidas del color instrumental se utilizó un colorímetro Minolta CR-300, con iluminante D65 (CIE Lab). Las mediciones se hicieron en el espacio de color CIEL*a*b* obteniéndose las coordenadas de cromaticidad L* (luminosidad), a* (eje rojo-verde) y b*(eje amarillo-azul). Los valores correspondientes a la saturación del color (Croma-C) y tinte (ángulo de hue-H°), se calcularon en base a las siguientes fórmulas:

$$C = (\text{a}^2 + \text{b}^2)^{0.5}$$

$$H^\circ = \arctg \text{ b}^*/\text{a}^*$$

Se realizaron tres medidas sobre la superficie de corte de cada lomo curado

II.2.6. Análisis de la composición en ácidos grasos del lomo curado y determinación de los índices nutricionales relacionados

Para el análisis de la composición en ácidos grasos se procedió a un fraccionamiento previo de la GIM en lípidos neutros, lípidos polares y ácidos grasos libres, empleando minicolumnas de aminopropil-NH₂ activadas con cloroformo y siguiendo el método descrito por Ruiz y cols. (2004).

El análisis de la composición en ácidos grasos de las tres fracciones de la GIM del lomo curado se realizó mediante cromatografía en fase gaseosa. Los ésteres metílicos de los

ácidos grasos (FAMES) se prepararon mediante trans-esterificación ácida en presencia de ácido sulfúrico (5% ácido sulfúrico en metanol) (Sandler y Karo, 1992). La separación y determinación de los FAMES se realizó con un cromatógrafo de gases (Hewlett-Packard HP 5890a), equipado con un inyector *on column*, y columna semicapilar de sílice fundido (30m x 0.53mm x 1.00 μ m) con fase estacionaria polar constituida por FFAP (Polietilenglicol-TPA modificado) mantenida a una temperatura de 225°C. Para la detección de los compuestos se empleó un detector de ionización de llama (FID). La temperatura del inyector y del detector fue de 230°C, y el horno se mantuvo a una temperatura constante de 220°C durante toda la carrera cromatográfica. El flujo del gas portador (N₂) fue de 1.8 ml min⁻¹. La identificación de los ácidos grasos se realizó comparando los tiempos de retención con los de los correspondientes patrones (Sigma, St Louis), analizados en las mismas condiciones cromatográficas. Los resultados se presentan como porcentaje de los ácidos grasos seleccionados.

Teniendo en cuenta la composición en ácidos grasos la fracción de lípidos neutros (que es la mayoritaria, suponiendo entre un 90 y un 95% del total de lípidos del músculo) y de los lípidos polares se calcularon los siguientes índices nutricionales relacionados:

1. Cociente Σ AGPI/ Σ AGS
2. Cociente AGPI Σ n-6/ Σ n-3
3. Cociente ácidos grasos hipocolesterolémicos / ácidos grasos hipercolesterolémicos (h/H) (Fernández y cols., 2006), donde h= Σ C18:1 n-9, C18:1 n-7, C18:2 n-6, C18:3 n-6, C18:3 n-3, C20:3 n-6, C20:4 n-6, C20:5 n-3, C22:4 n-6, C22:5 n-3 y C22:6 n-3; y H= Σ C14:0 y C16:0.
4. Índice aterogénico (IA) (Ulbricht y Southgate 1991)= $(aS^I + bS^{II} + cS^{III}) / (dP + eM + fM^I)$, donde S^I = C12:0, S^{II} = C14:0, S^{III} = C16:0, P= Σ n-3 y n-6 AGPI, M= C18:1 y M^I = Σ resto de AGMI. Las constantes *a*, *c*, *d*, *e* y *f* tienen el valor de la unidad, mientras que *b* es igual a 4.
5. Índice trombogénico (IT)= $mS^{IV} [nM + oM^I + p(\Sigma n-6) + q(\Sigma n-3) + (\Sigma n-3) / (\Sigma n-6)]$, donde S^{IV} = Σ C:14:0, C16:0 y C18:0, M=C18:1 y M^I = Σ resto de AGMI. La constante *m* tiene el valor de la unidad; *n*, *o* y *p* el valor de 0.5 y la constante *q* de 3 (Ulbricht y Southgate, 1991).

III.2.7. Estudio de la fracción insaponificable

III.2.7.1. Determinación del contenido en colesterol

Para la determinación del contenido en colesterol en el músculo *l. dorsi* y en el lomo curado se empleó el método propuesto por Guardiola y cols. (1994) y posteriormente adaptado por Tejada (1999). Se partió de 100 mg de grasa previamente extraída, que fue sometida a un proceso de saponificación alcalina en frío (con KOH 1N), durante 20 horas a temperatura ambiente. Posteriormente la fracción insaponificable se recogió mediante la realización de sucesivos lavados con dietil éter. Finalmente la fase orgánica se filtró con sodio sulfato anhidro y se evaporó el dietil éter bajo corriente de nitrógeno. Al extracto obtenido se le añadió el patrón interno (colestano, Sigma Aldrich) y se disuelve en piridina y BSTFA (bis-trimetilsilil-trifluoroacetamida) para la derivatización del colesterol. La determinación del colesterol se realizó mediante cromatografía de gases en un cromatógrafo Hewlett-Packard HP 5890-II, con un inyector en modo split, equipado con una columna capilar Hewlett-Packard (12 m x 0.2 mm y 0.3 μm) con fase estacionaria apolar (metil silicona). La detección de compuestos se realizó mediante un detector de ionización de llama (FID). La temperatura del inyector fue de 280°C y del detector 290°C. La inyección se llevo a cabo en modo split, con una relación de partición de 1:100, una presión de cabeza de columna fue de 10psi, resultando en un flujo en columna de 0.143ml min⁻¹. El programa de temperaturas del horno fue el siguiente: temperatura inicial de 210°C, rampa de 2°C/min hasta 264°C, rampa de 5°C/min hasta los 290°C onde permanece e isoterma 2 minutos. La cuantificación del colesterol se realizó calculando el porcentaje de recuperación tras el proceso analítico, que resultó del 98%, así como los factores de respuesta del detector FID frente a las concentraciones de compuesto analizadas.

III.2.7.2. Determinación del contenido en α - y γ -tocoferol en el músculo *l. dorsi* y lomo curado

Para la determinación del contenido en α - y γ -tocoferol, se homogenizaron 0.8 gramos de muestra en 6 mL de buffer fosfato (0.054 M, pH 7 ajustado con HCL). Tras añadir a la mezcla etanol absoluto y hexano y centrifugar las muestras (2000 rpm, 5 min, a 4°C), se recogió la parte superior, que contiene el tocoferol, y se sometió a evaporación (del hexano) bajo corriente de nitrógeno. Finalmente se redisolvió en etanol para su posterior análisis mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Hewlett-Packard Waldbronn, Germany, serie 1050, equipado con detector ultravioleta UVD, HPIB 10 detector). La separación del α y el γ -tocoferol se realizó en una columna PR 18 (250 mm x

4mm y 5 μm de tamaño de partícula) (Merck, Darmstadt Alemania). La fase móvil empleada fue metanol: agua (97:3) a un flujo de 2ml min^{-1} y los picos se registraron a 292 nm. La identificación se realizó por comparación de los tiempos de retención con los correspondientes patrones de α - y γ -tocoferol y la cuantificación a partir de una cantidad conocida de los distintos patrones y se expresó en $\mu\text{g g muestra}^{-1}$ (Rey y col., 1996).

III.2.8. Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el paquete estadístico SPSS (versión 12.0). Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para determinar el efecto del lote sobre las diferentes variables estudiadas. En las variables en las que se apreciaron diferencias significativas ($P < 0.05$) se aplicó un Test de Tukey para determinar la existencia de diferencias entre las medias de los distintos lotes, estableciéndose un nivel de significación de 0.05. Las correlaciones entre las distintas variables se establecieron mediante el coeficiente de correlación de Pearson (R^2).

III.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mermas durante el procesado:

En la figura 1 se presentan los resultados de las pérdidas de peso de las piezas con relación al peso inicial (% de mermas acumuladas) correspondientes a la deshidratación de los lomos durante la etapa de secado-maduración (últimos 60 días). Igualmente se presenta un gráfico correspondiente a la evolución de la temperatura y la humedad relativa a lo largo del procesado completo de los lomos.

En todos los lotes se observó un incremento del porcentaje de mermas acumuladas a lo largo del tiempo de secado-maduración de los lomos. Dos fenómenos diferenciados podrían haber determinado las pérdidas de peso por deshidratación de los lomos durante el procesado. Por una parte, durante el salado de las piezas, la presencia de elevadas concentraciones de sal en el exterior de los lomos propicia tanto la difusión de la sal y otros solutos al interior, como paralelamente una cierta deshidratación osmótica por salida de agua hacia la zona de mayor concentración de solutos (el exterior del lomo) (Andrés y Ruiz, 2001). Durante el periodo de secado-maduración la deshidratación es cuantitativamente más importante, debido a que el paulatino incremento de la temperatura y las condiciones de humedad relativa (HR) de las cámaras, originan una constante evaporación del agua de la superficie los lomos (Ventanas y Cava, 2001). Así, siempre que las cámaras presenten un HR inferior a la actividad de agua (a_w) del producto, el agua presente en la superficie de las piezas tenderá a pasar al ambiente, llevando a una

progresiva deshidratación de las piezas (Arnau y cols., 2003), de esta manera, se llegó hasta unas mermas finales que superaron el 40% (figura 1).

A lo largo de todo el proceso las mermas presentadas por los lomos del lote IB-MON fueron inferiores a las presentadas por los lomos del resto de lotes, aunque únicamente se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre lotes en los % de mermas finales (a los 101 días de procesado), cuyos valores oscilaron desde un 39% para el lote IB-MON hasta un 46% de mermas para los lomos del lote DxIB-AOVE. En un estudio anterior realizado en lomos curados procedentes de diferentes estirpes de cerdos Ibéricos (Muriel, 2003), se describen % de mermas acumuladas en torno al 43% y por tanto similares a las obtenidas en el presente trabajo. No se ha encontrado en la literatura científica consultada otros datos relativos a los % de mermas en lomos curados. No obstante, actualmente las industrias dedicadas a la elaboración de productos curados suelen dar salida al mercado lomos curados con un porcentaje de mermas en torno al 35%, cuando estos productos se destinan al consumo doméstico, mientras que cuando el destino es la hostelería se suelen alcanzar porcentajes de mermas mayores, en torno al 40%.

El mayor contenido en GIM presentado tanto por el músculo *l.dorsi* (capítulo I) como por los lomos curados (tabla 1) del lote IB-MON podrían explicar la menores mermas presentadas por las piezas de este lote en relación con los lomos procedentes de los lotes de cerdos cruzados CON y AOVE (IBxD y DxIB). Por una parte, un mayor contenido en GIM podría estar relacionado con menores pérdidas por deshidratación osmótica durante el salado. Cuanto mayor sea el contenido graso de las piezas, menor será la velocidad de penetración de la sal al interior de éstas, puesto que el coeficiente de difusividad de este elemento es menor en la grasa que en el magro. No obstante, en el caso de los lomos, a diferencia de los jamones en los que durante el salazonado la concentración de sal en el exterior se puede considerar constante, únicamente entraron en contacto directo con la sal durante la fase de salado en el bombo. Además, el sistema empleado fue un bombo a vacío que permite una adecuada penetración de la sal al interior de las piezas en poco tiempo. Por tanto, el contenido en GIM y su influencia en el porcentaje de mermas acumuladas, estaría más relacionado con su efecto sobre la difusión del agua del interior de las piezas hacia la superficie de las mismas y su posterior evaporación al ambiente. De hecho el coeficiente de difusividad del agua en el magro disminuye al incrementar el contenido graso (Gou y Comaposada, 1997). De esta forma, los lomos con mayor contenido en GIM, necesitarían más tiempo para alcanzar un % de mermas similar a lomos con menor contenido graso, lo que se confirma los resultados obtenidos para los lomos del lote IB-

MON. Sin embargo, en el presente estudio, los lomos de lote IB-AOVE, presentaron igualmente niveles de GIM elevados y muy parecidos a los del lote IB-MON, como consecuencia del carácter adipogénico de la raza Ibérica (Capítulo I). En el caso de los lomos del lote IB-AOVE, el % de mermas acumuladas no difirieron significativamente ($p < 0.05$) del obtenido para el resto de lotes de cerdos cruzados AOVE, y al igual que para estos lotes los valores fueron significativamente ($p < 0.05$) superiores a los del lote IB-MON en el % de mermas finales. Por tanto, puesto que los lomos de lotes con similar contenido en GIM, e incluso superior para el producto final en los lomos del lote IB-AOVE (tabla 1), presentaron un comportamiento diferente en el % de mermas obtenidas, otros factores diferentes al contenido graso deben haber contribuido junto con los niveles de GIM a los menores % de mermas acumuladas obtenidas para los lomos del lote IB-MON. Una posible explicación a este diferente comportamiento, podría ser el hecho de que los pesos iniciales (justo antes del procesado) de los lomos del lote IB-MON fueron significativamente ($p < 0.05$) inferiores al presentado por los lomos del resto de lotes, lo que repercutiría en el grado de penetración y difusión de la sal al interior de las piezas. Al ser estos lomos de menor tamaño, presentarían una relación superficie/volumen mayor que el resto de lotes, de forma que la captación de sal por unidad de volumen sería mayor. Teniendo en cuenta que el proceso de salado de los lomos se realizó conjuntamente en bombo, es probable que como consecuencia de su menor tamaño los lomos del lote IB-MON captaran un mayor contenido en sal, lo que podría haber llevado a un incremento de la capacidad de retención de agua (CRA), ya que la sal afecta a la solubilidad de las proteínas. En concreto, el anión Cl^- se une a los grupos cargados positivamente de las proteínas, provocando una disminución de su punto isoeléctrico. Como consecuencia se produce un incremento del número neto de cargas negativas de las proteínas, y por fenómenos de repulsión, un aumento del espacio entre éstas, con el consiguiente incremento de la CRA (Andrés y Ruiz., 2001). Esto explicaría la menor deshidratación de las piezas de menor tamaño. De hecho, como se describirá posteriormente, el % de cloruros presentado por los lomos curados IB-MON fue superior al del resto de lotes. Además, estos resultados, se confirmaron posteriormente en la evaluación sensorial llevada a cabo con lomos procedentes de estos mismos lotes ($n=8$) (capítulo IV), donde las puntuaciones alcanzadas por los lomos del lote IB-MON para el sabor salado fueron superiores al del resto de lotes evaluados.

Composición química, color instrumental y contenido en pigmentos hemínicos del lomo curado

Los resultados obtenidos en relación a la composición química (% de humedad, %de grasa intramuscular (GIM), % de proteínas y % de cloruros), los parámetros de color instrumental (coordenada L*, a*, b*, ángulo de Hu H y saturación del color cromático C) y al contenido en pigmentos hemínicos (mioglobina y hierro hemínico) de los lomos curados de los cinco lotes estudiados se presentan en la tabla 1.

A pesar de las diferencias en el porcentaje de mermas acumuladas, el contenido en humedad de los lomos no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los lotes estudiados, y los valores oscilaron entre el 26.12% presentado por el lote IB-AOVE y el 28.32% presentado por el lote IBxD-AOVE. Muriel (2003) y Morcuende (2005) describieron porcentajes de humedad superiores tanto en lomos curados de cerdos Ibéricos como de cerdos cruzados con Duroc al 50%. En el presente estudio, probablemente el hecho de que se procesaran medios lomos, no las piezas enteras, y que el tiempo de procesado se prolongara hasta los 101 días pudo contribuir a una mayor deshidratación de las piezas. Aunque las diferencias no fueron significativas, los lomos de los lotes de cerdos cruzados AOVE (DxIB y DxIB) presentaron un mayor contenido en humedad que los lomos del lote de cerdos de igual alimentación pero de raza Ibérica pura (IB-AOVE) (28.00 y 28.32% vs 26.12%). Ventanas y cols. (2006) si encontraron diferencias en el contenido en humedad de los músculos bíceps procedentes de cerdos de los mismos lotes empleados en este estudio (DxIB-AOVE, IBxD-AOVE y IB-AOVE).

En relación al contenido en GIM de los lomos curados, los valores estuvieron comprendidos entre el 3.98 % (5.56 % en e.s) del lote IBxD-CON y el 7.73 % (10.04 % en e.s.) del lote IB-AOVE. Estos valores son ligeramente inferiores a los descritos por Morcuende (2005) en lomos de cerdos cruzados (en torno al 7 % en materia fresca) y por Muriel (2003) en lomos de cerdos Ibéricos de montanera y pienso (superior al 7 % en extracto fresco y superior al 11 % en extracto seco). Estas diferencias probablemente se deban a la diferente zona del lomo considerada en cada estudio. En el caso de Morcuende (2005) no se especifica donde se realizó la toma de muestras por lo que entendemos que se hizo de forma aleatoria a lo largo del músculo, lo que pudo haber contribuido a elevar el contenido medio de GIM de los lomos de este estudio. En el caso de Muriel (2003) la muestra se tomó de la parte craneal del lomo (cabezada) donde el contenido en grasa es mucho más elevado que en el resto de la pieza. En nuestro caso, las muestras empleadas

para la cuantificación de la GIM fueron tomadas en todos los casos de la parte central del lomo donde el contenido graso es menor que el existente en otras zonas como la cabezada. Comparando los valores de GIM en materia seca de los lomos curados con los obtenidos para este parámetro en las mismas muestras en fresco (Capítulo I), se observó como el contenido lipídico descendió para todos los lotes durante el procesado, probablemente como consecuencia de las reacciones de degradación y oxidación lipídica. Este descenso en el contenido en GIM también fue observado por Muriel (2003) en lomos curados de cerdo Ibérico.

La alimentación recibida por los animales no influyó en el contenido en GIM, puesto que no se encontraron diferencias significativas en este parámetro entre los lomos curados de cerdos de igual genética y diferente alimentación (IBxD-CON vs IBxD-AOVE e IB-AOVE vs IB-MON). Aunque el lote IB-AOVE presentó un contenido en GIM en materia fresca significativamente ($p < 0.05$) superior al lote IB-MON, cuando este contenido se expresó en materia seca dichas diferencias desaparecen. Al igual que la tendencia descrita para la materia prima (capítulo I) el contenido en GIM estuvo determinado principalmente por la genética de los animales. Los lomos de cerdos de raza Ibérica pura (IB) presentaron significativamente ($p < 0.05$) mayores valores de GIM (tanto en materia fresca como en materia seca) que los lomos de cerdos de igual alimentación (AOVE) pero cruzados con Duroc al 50% (DxIB-AOVE y IBxD-AOVE). Sin embargo, el tipo de cruce empleado no pareció influir en el contenido graso de los lomos ya que no hubo diferencias significativas entre ambos lotes (DxIB-AOVE y IBxD-AOVE), coincidiendo con los resultados obtenidos por Morcuende (2005) que no encontró diferencias en el contenido en GIM de lomos curados de cerdos cruzados de madre Ibérica y madre Duroc.

Los valores obtenidos del contenido en proteínas (% de muestra en fresco) estuvieron comprendidos entre el 42.85% del lote IB-MON y el 47.79% lote IBxD-AOVE. El lote IBxD-AOVE presentó significativamente ($p < 0.05$) mayor contenido en proteínas que el resto de lotes estudiados, mientras para los lomos de lote IB-MON el contenido en proteínas fue significativamente ($p < 0.05$) menor al del resto de lotes excepto con el lote IBxD-CON. Estos resultados seguramente sean debidos al diferente contenido en GIM y al distinto grado de deshidratación de los lomos de los diferentes lotes.

El nivel de cloruros detectado en los lomos estudiados estuvo comprendido entre el 2.68% del lote IBxD-AOVE y el 3.29 % del lote IB-MON. Ni la genética ni la alimentación influyeron en el contenido en cloruros puesto que no se detectaron diferencias significativas entre lotes de igual genética y diferente alimentación (IBxD-CON vs IBxD-AOVE y IB-

AOVE vs IB-MON) y de igual alimentación y diferente genética (IBxD-AOVE vs IB-AOVE vs DxIB-AOVE). Sin embargo cuando los resultados se expresan en extracto seco, el lote IB-MON presentó un contenido en cloruros significativamente ($p < 0.05$) superior al del resto de lotes, lo que podría ser debido al menor peso inicial de los lomos de este lote, como ya se ha descrito previamente. En este sentido, se obtuvieron correlaciones negativas y significativas ($p < 0.01$) entre el peso inicial de los lomos y el contenido en cloruros en extracto fresco (coeficiente de correlación de Pearson, $R^2 = -0.543$; $p < 0.01$) y entre el peso inicial y el contenido en cloruros en extracto seco (coeficiente de Pearson $R^2 = -0.459$; $p < 0.01$).

Todas las coordenadas de color medidas, L^* (luminosidad), a^* (rojo-verde), b^* (amarillo y azul) y las magnitudes psicofísicas croma (C, saturación del color) y ángulo de hue (H° , tinte) mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los lotes estudiados (tabla 1).

La coordenada L^* (luminosidad) mostró valores entre 30.34 para los lomos del lote DxIB-AOVE y 34.5 para los del lote IBxD-CON. Los lomos procedentes de cerdos cruzados de madre Ibérica pura (IBxD-AOVE) presentaron valores de L^* significativamente ($p < 0.05$) superiores a los de los lomos de cerdos cruzados de madre Duroc (DxIB-AOVE). Wood y cols., (2003) describieron que las células grasas con mayor proporción de grasa sólida presentaban una coloración más blanca que aquellas con una mayor proporción de grasa en estado líquido. A su vez, el porcentaje de grasa sólida, está relacionado con la composición en ácidos grasos, de forma que los adipocitos con mayor proporción en AGS (con puntos de fusión más elevados) en la fracción de lípidos neutros (que es la mayoritaria), presentarían una mayor proporción de grasa en estado sólido y en consecuencia un color más blanco lo que probablemente se vería reflejado en valores de L^* más elevados. En este sentido, los lomos del lote IBxD-AOVE presentaron un % de AGS tanto en la fracción de AGL como en la de lípidos polares significativamente ($p < 0.05$) superior al lote DxIB-AOVE, aunque no para la fracción de lípidos neutros, como se describirá posteriormente. No obstante, existen otros factores que podrían condicionar los valores de la coordenada L^* obtenidos para el lomo curado, como son el % de humedad, la CRA que estaría estrechamente relacionada con el pH y con la integridad de las proreínas musculares, el nivel de engrasamiento, etc. En este sentido, la coordenada L^* presentó una correlación positiva y significativa con las puntuaciones para el atributo grado de vetado (coeficiente de correlación de Pearson $R^2 = 0.384$; $p < 0.05$) y tamaño de las vetas (coeficiente de correlación de Pearson $R^2 = 0.403$; $p < 0.05$) tras la evaluación sensorial de los lomos de los

lotes estudiados (n=8) y cuyos resultados se presentan en el capítulo IV. Los lomos del lote IBxD-AOVE presentaron un mayor nivel de ácidos grasos insaturados en la fracción de lípidos neutros (tanto en AGMI como en AGPI) (tabla 2), y por tanto con menor punto de fusión, que los del lote DxIB-AOVE, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. En el caso del lote IBxD-AOVE este mayor nivel de insaturación de la grasa podría haber afectado al estado físico de la misma. De esta forma, a la temperatura de realización de las medidas (temperatura ambiente) la proporción de grasa en estado líquido sería mayor que la del lote DxIB-AOVE, y consecuentemente podría haberse formado una capa en la superficie de corte, que produciría un aumento en la refracción de la luz obteniéndose por tanto valores de L^* superiores.

Los valores obtenidos tanto para la coordenada a^* (eje rojo-verde) como para la magnitud C (relacionada con la intensidad del color o saturación) fueron superiores en los lomos del lote IBxD-CON en comparación con los valores obtenidos para el resto de los lotes, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas con el lote IBxD-AOVE. Contrariamente, los lomos del lote IB-MON obtuvieron los menores valores en ambas coordenadas, presentando la superficie de corte menor coloración roja y de menor intensidad. Algunos autores han encontrado correlaciones positivas entre los valores de estos dos parámetros y el contenido en mioglobina y pigmentos hemínicos (Lindahl y cols., 2001; Estévez y cols., 2003). Sin embargo, otros autores como Carrapiso y cols. (2005) describieron que la ausencia de correlaciones en jamones Ibéricos entre el contenido en pigmentos hemínicos y las coordenadas CIElab indicarían que estos parámetros en este tipo de productos estarían más influidos por otros factores diferentes al contenido en dichos pigmentos. De hecho, aunque el lote IB-MON fue el que presentó menores valores de la coordenada a^* y de la magnitud C, el contenido en mioglobina fue significativamente ($p < 0.05$) superior al resto de lotes, por tanto otros factores probablemente relacionados con el grado de veteado de la superficie de corte pudo influir en los resultados obtenidos para estas medidas. En el estudio de evaluación sensorial (Capítulo IV) llevado a cabo en estos mismos lomos (n=8 por lote), los panelistas otorgaron mayores puntuaciones para el grado de veteado y el tamaño de vetas en los lomos de raza Ibérica pura (con mayor contenido en GIM), incluidos los del lote IB-MON. Del mismo modo las puntuaciones de los lomos de este lote para el atributo “rojo del magro” fueron las menores comparadas con las obtenidas por el resto de lotes. Por otra parte, uno de los factores que pudo haber contribuido igualmente a los menores valores de la coordenada a^* obtenidos para el lote IB-MON, es su menor grado de deshidratación, reflejado en el menor % de mermas de

estos lomos a lo largo del procesado, que fue significativo al final del mismo (figura 1). Valores altos de a^* se han relacionado en jamón con una intensa desecación del producto a lo largo del procesado (Arnau y cols., 2003). Andrés y cols (2005) observaron que jamones procesados a temperaturas más elevadas en la fase de secadero mostraban una coloración roja más intensa que jamones procesados a temperaturas más moderadas. En el presente trabajo, en aquellos lomos en los que se haya producido una mayor desecación, presentarán un aumento en la concentración de pigmentos, lo que podría verse reflejado en una coloración roja más intensa y por tanto mayores valores de a^* . Esto explicaría los menores valores de a^* en los lomos del lote IB-MON, a pesar de que su contenido en pigmentos en extracto seco fuera el más alto.

Los valores obtenidos para la coordenada b^* (eje amarillo-verde) oscilaron entre el 4.14 de los lomos del lote IBxD-CON y el 3.08 del lote DxIB-AOVE, mientras que para la magnitud ángulo de Hue H° se presentaron valores entre 18.33 del lote DxIB-AOVE y 21.29 del lote IB-MON. El valor de la coordenada b^* viene determinada por las características de la grasa que es la que contribuye con “coloraciones amarillentas” a la medición del color. Del mismo modo la cantidad de nitrosomioglobina oxidada, en este caso del magro, (nitrosometamioglobina con coloraciones parduscas) (Skibsted, 1992) podría contribuir a estas coloraciones amarillentas. Coincidiendo con los resultados obtenidos para el valor b^* (significativamente ($p < 0.05$) mayores para el lote IBxD-CON con respecto los lotes DxIB-AOVE e IB-MON), en un estudio correspondiente al capítulo VI de la presente tesis doctoral, en el que se midió el “índice de amarillez” de sistemas modelos con liposomas preparados a partir de lípidos polares de *I. dorsi* de los lotes IBxD-CON e IB-MON, se observó la generación de compuestos “amarillos” a lo largo del tiempo de incubación medidos mediante espectrofotometría. Además, se comprobó que los sistemas con liposomas CON presentaron mayores valores de este índice que los MON, asociado probablemente a una mayor intensidad de las reacciones de oxidación lipídica consecuencia del mayor nivel de AGPI en los liposomas CON con respecto a los MON (51.53% vs 38.21 %).

Los resultados obtenidos tras la determinación química de los pigmentos hemínicos presentes en los lomos curados se exponen en la tabla 1. Los valores obtenidos para la concentración de mioglobina (mg g^{-1} de muestra) y para el contenido estimado en hierro hemínico ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ de muestra) fueron significativamente ($p < 0.05$) mayores en los lomos del lote de montanera (IB-MON) (4.69 mg g^{-1} de muestra de mioglobina y $1.33 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de muestra de hierro hemínico) en comparación con el resto de lotes (valores de

mioglobina inferiores a 4 mg g^{-1} de muestra y de hierro hemínico inferiores a $1.20 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de muestra para el resto de lotes). La actividad física realizada por los cerdos cebados en montanera, explicaría el mayor contenido en mioglobina sus músculo y en definitiva en los productos curados derivados. Como consecuencia de la adaptación al ejercicio físico realizado durante la cría de los animales en extensivo, el número de fibras oxidativas del músculo aumenta y con ello el contenido en mioglobina (Andrés y cols., 2000). Por otra parte, la genética de los animales no pareció influir en el contenido en mioglobina de los lomos, puesto que aunque para los lotes procedentes de cerdos alimentados con los piensos AOVE, los lomos de cerdos Ibéricos puros (IB) presentaron mayores valores para la concentración de mioglobina que los lomos de los cerdos cruzados (IBxD y DxIB), estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$). Estos resultados coinciden con los descritos previamente por Andrés y cols. (2000) que no encontraron diferencias en el contenido en mioglobina en diferentes músculos de cerdos Ibéricos y cruzados al 50% con Duroc, lo que atribuyeron a la falta de diferencias en el contenido en fibras oxidativas entre ambos tipos de cruces. No obstante si se observó una tendencia ($p < 0.1$) de los lomos de cerdo Ibérico puros (IB-AOVE) ($1.17 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de muestra) a presentar mayores niveles de hierro hemínico que los lotes de cerdos cruzados (IBxD-AOVE y DxIB-AOVE) ($1.03 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de muestra y $0.93 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de muestra respectivamente).

Desde el punto de vista nutricional, estudios recientes realizados en diferentes derivados del cerdo Ibérico como en jamón (Forero ,2003; Mataix y cols. 2003) y patés (Estévez y cols., 2004) establecen que estos productos representan una excelente fuente de hierro en comparación con los productos derivados de cerdos comerciales. Considerando los resultados obtenidos en el presente estudio, la genética (Ibérico vs cruzado con Duroc) y en mayor medida la explotación en montanera contribuyeron a incrementar los niveles de hierro hemínico en los lomos curados, siendo por tanto los lomos curados procedentes de cerdos de raza Ibérica pura explotados en régimen extensivo en montanera (IB-MON) los que presentaron un contenido significativamente ($p < 0.05$) mayor en este elemento. Teniendo en cuenta que la cantidad diaria recomendada (CDR) para el hierro son de 15 mg en mujeres no gestantes entre 15 y 44 años y 10 mg para mujeres postmenopaúsicas y hombres (Moreno Rojas., 2000) el consumo de 100 g de lomo curado del lote IB-MON supondría un aporte del 8.8% y del 13.3% de estas CDR para cada uno de los grupos descritos anteriormente.

Composición en ácidos grasos del lomo curado y sus implicaciones nutricionales.

En la tabla 2 se presenta el perfil de ácidos grasos así como los diferentes índices nutricionales calculados para la fracción de lípidos neutros de los lomos curados

De los tres sumatorios de ácidos grasos estudiados, AGS, AGMI y AGPI, únicamente los dos primeros presentaron diferencias significativas ($p < 0.01$) entre los lotes

Las diferencias más importantes se presentaron para el sumatorio de AGS, cuyos valores fueron desde el 37.86% del lote IBxD-AOVE hasta el 40.65% del lote IB-AOVE. Este último lote fue el que presentó el contenido en AGS significativamente ($p < 0.05$) más elevado, debido principalmente al significativamente ($p < 0.05$) mayor porcentaje de ácido palmítico (C16:0).

En relación al sumatorio de AGMI, las diferencias no fueron tan marcadas como para los AGS, siendo el lote IBxD-AOVE el que presentó un mayor porcentaje (57.25%), consecuencia del significativamente ($p < 0.05$) mayor contenido en ácido oleico (C18:1, n-9) (51.82%), mientras que los lotes de lomos de cerdos de raza Ibérica pura (IB-AOVE e IB-MON) fueron los que presentaron el menor contenido en AGMI (55.51% y 55.89% respectivamente) y en C18:1 n-9 (49.45% y 50.05% respectivamente).

Finalmente, el sumatorio de AGPI se situó en torno al 4-4.5% en todos los lotes estudiados con ausencia de diferencias significativas ($p > 0.05$) entre lotes. Los resultados del sumatorio de los AGPI n-6 presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los lotes con valores comprendidos entre el 3.39% del lote IBxD-CON y el 4.46% para los lotes IBxD-AOVE e IB-MON. Estos dos últimos lotes, presentaron porcentajes más elevados de los principales AGPI n-6, el C18:2, n-6 (ácido linoleico), el C20:3 n-6 y el C22:4 n-6. Aunque los sumatorios de los AGPI n-3 no presentaron diferencias significativas entre lotes, individualmente algunos ácidos grasos de este grupo si presentaron diferencias entre los lomos estudiados. Para el ácido graso n-3 mayoritario, el ácido linolénico (C18:3 n-3) el lote IB-MON presentó los porcentajes más elevados con un 0.25%, mientras que el lote IBxD-CON presentó los niveles más bajos, con un 0.17%. No obstante, el lote IBxD-AOVE presentó niveles significativamente más elevados de los principales AGPI n-3 de cadena larga como el C20:5 n-3 o EPA (ácido eicosapentaenoico), el C22:5 n-3 y el C22:6 n-3 o DHA (ácido docosahexaenoico).

Diversas instituciones internacionales, entre ellas la Organización Mundial de la Salud han establecido una serie de recomendaciones dietéticas relativas a la ingesta diaria de grasa y ácidos grasos a través de la dieta (OMS; 2003; U. S. Department of Health and Human Services (HHS) and Department of Agriculture (USDA), 2005). Dentro de estas

recomendaciones se incluyen las siguientes: de la ingesta diaria de energía total en forma de calorías únicamente entre un 15-30% debe provenir del consumo de grasas, suponiendo la grasa saturada no mas de un 10% de las calorías totales, entre un 5-8% de la energía ingerida en forma de grasa debe tener como origen los ácidos grasos n-6 y entre un 1-2% los ácidos grasos n-3. No obstante algunos estudios recientes han puesto de manifiesto que la sustitución de grasa saturada por grasa insaturada en la dieta es más efectiva en el descenso del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares que únicamente la reducción de la ingesta total de grasa (Hu y cols., 2001).

La composición en ácidos grasos de la grasa tiene un importante efecto en el binomio dieta-salud, puesto que cada ácido graso presenta un efecto diferente en los lípidos plasmáticos, en concreto en las lipoproteínas encargadas de transportar el colesterol en la sangre. Concentraciones elevadas de lipoproteínas de baja densidad (LDL) pueden ser un indicador más preciso de enfermedad cardiovascular que el colesterol sérico total., mientras que niveles elevados de colesterol vehiculados en las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se consideran un factor de protección. Así, los AGS de 12-16 átomos de carbono, incrementan los niveles de LDL-colesterol y el cociente LDL: HDL (Wiserman, 1997; Valsta y cols., 2005), mientras que la presencia de los AGMI y AGPI disminuyen los niveles de LDL. Sin embargo, los AGPI (principalmente el ácido linoleico C18:2 n-6) parece que también disminuyen los niveles de las HDL, mientras que los AGMI (principalmente el ácido oleico C18:1 n-9) no reducen los niveles de HDL sino que disminuyen exclusivamente el colesterol vehiculado a las LDL (Mattson y col., 1985). Este efecto protector de los niveles de HDL de los AGMI ha sido comprobado en repetidos experimentos (Grundy., 1986; Mensink y col., 1987) donde además se ha puesto en evidencia que no incrementa el nivel de triglicéridos circulantes. Se estima que la capacidad de los AGPI para reducir la concentración de colesterol en plasma es aproximadamente la mitad que la de los AGS tienen de aumentarla (Keys y cols. 1957), por lo que teóricamente resulta más interesante reducir la concentración de AGS que tratar de aumentar la de AGPI (López Bote y Ruiz 1993). Por tanto desde el punto de vista de la salud del consumidor, teniendo en cuenta estas consideraciones, el perfil en ácidos grasos de la fracción de lípidos neutros de los lomos Ibéricos pueden considerarse mas “saludables” en comparación con el perfil de carne procedente de otras especies como la carne de ternera cuyo nivel de AGS saturados es muy superior al de la carne de cerdo (Wood y cols., 2003). López Bote y Ruiz (1993) describieron que la proporción de ácidos grasos saturados de la carne de porcino era muy inferior a la de vacuno (41% vs 52%) al absorber y depositar con

escasas modificaciones los ácidos grasos que consume. Más recientemente, Serrano y cols. (2005) describieron para carne de ternera reestructurada niveles de AGS de un 42% y de AGMI de un 38%, mientras que los lomos del presente presentaron niveles de AGS inferiores (menos de un 40.5%) y el de AGMI muy superior (más del 55%). En concreto, en el presente trabajo los lomos del lote IBxD-AOVE presentarían la composición en ácidos grasos en teoría más saludable, puesto que fueron los que presentaban un mayor contenido en AGMI y un menor contenido en AGS. En un estudio clínico realizado por García Rebollo y cols., (1998), al incluir en la dieta habitual de personas mayores el jamón Ibérico como fuente de AGMI (principalmente de ácido oleico), observaron descensos en los niveles de colesterol plasmático, nivel de triglicéridos y de LDL-colesterol.

Estudios epidemiológicos llevados a cabo a finales de los años 70 (Dyerberg y Bang, 1979) en poblaciones de esquimales pusieron de manifiesto la baja incidencia de enfermedades cardiovasculares en estas poblaciones, relacionados con el consumo de AGPI n-3 de cadena larga, como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA), presentes en altas cantidades en el pescado, base de la dieta de estos esquimales. Numerosos estudios posteriores han demostrado los efectos positivos que presentan estos ácidos grasos debido a que mejoran el estatus del sistema cardiovascular, mediante la reducción de la agregación plaquetaria y los niveles de triglicéridos y colesterol plasmáticos, así como la respuesta inmune (Austin, 1997). En los tejidos animales el ácido linolénico (C18:3n-3), que es un ácido graso esencial y por tanto debe incorporarse a través de la dieta, sufre reacciones de elongación que dan lugar a la formación de los AGPI n-3 de cadena larga. Por el contrario, elevados niveles de AGPI n-6 de cadena larga, como el C20:4 n-6 (araquidónico) o el C22:4 n-6, derivados del ácido linoleico (C18:2 n-6) ocasionan un estado pro-inflamatorio en el organismo. En líneas generales la carne presenta escaso contenido en AGPI n-3, que por el contrario son muy abundantes en pescados (López Bote y Ruiz, 1993). Muriel y cols (2002) describieron que los músculo de cerdos alimentados en montanera presentaban mayores niveles de AGPI n-3 que los explotados en intensivo, aunque estos valores no superaron el 0.9% del total para la fracción de lípidos neutros. Teniendo en cuenta estas consideraciones, en primer lugar en el presente trabajo todos los lotes presentaron un sumatorio de AGPI n-3 y n-6 similar. En concreto, los lomos del lote IBxD-CON fueron los que presentaron un mejor perfil nutricional en relación al perfil de AGPI, debido principalmente los significativamente ($p < 0.05$) menores niveles de AGPI n-6 presentados por los lomos de este lote en comparación con el resto de lotes.

Los efectos biológicos tanto de los AGPI n-3 como de los n-6 derivan de la producción de eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos) a partir de dichos ácidos grasos aunque con efectos fisiológicos diferentes. Los productos finales de los AGPI n-6 incluyen leucotrienos con potente capacidad para producir agregación y actividad de trombocitos y plaquetas, mientras que los leucotrienos derivados de los AGPI n-3 son mucho menos activos. Además, los tromboxanos derivados de éstos últimos son mucho menos potentes que los derivados de los AGPI n-6, lo que puede considerarse como positivo ya que los tromboxanos favorecen la vasoconstricción y agregación plaquetaria. Por último las protaciclina derivadas de los AGPI n-3 provocan vasodilatación e inhibición de la agregación plaquetaria. Al existir una competencia por las enzimas de transformación entre los n-3 y los n-6, un incremento de los niveles plasmáticos (a través de la dieta) de los n-3 produciría una disminución de los efectos asociados a los eicosanoides derivados de la serie n-6. Por esta razón, más que los niveles individuales de los sumatorios de los AGPI n3 y n-6, tienen una mayor importancia desde el punto de vista de los efectos cardiovasculares la relación entre ambos grupos de AGPI. Las actuales recomendaciones nutricionales van dirigidas a consumir alimentos con un cociente n-6/n-3 menor de 4 (Wood y cols., 2003). Si bien en el presente estudio el cociente n-6/n-3 superó con creces en todos los lotes las recomendaciones establecidas (superior 9 para todos los lotes), estos valores coinciden en líneas generales con los cocientes descritos por otros autores en carne fresca y músculo *l. dorsi* de cerdo (Wood y cols., 2003; Muriel y cols., 2002; Muriel y cols., 2004) así como en productos cárnicos derivados (Petrón y cols., 2004; Fernández y cols., 2006) o patés (Echarte y cols., 2004; Estévez y cols., 2004). Los valores obtenidos para este cociente fueron desde 9.17 para el lote DxIB-AOVE hasta 10.43 para el lote IB-MON. Por tanto, teniendo en cuenta las recomendaciones anteriormente descritas el lote de lomos DxIB-AOVE sería el que presentaría un cociente n-6/n-3 más saludable.

Además del cociente n-6/n-3, con el objetivo de evaluar los potenciales efectos sobre la salud de los lomos curados se calcularon otros cocientes de interés, como el cociente AGPI/AGS y el cociente h/H. La fracción mayoritaria de la grasa muscular es la de los lípidos neutros, y por tanto durante el consumo de los productos cárnicos la grasa (lípidos totales) que se ingiere con el alimento correspondería principalmente a dicha fracción, cuyas características son las que presentarían mayor repercusión desde el punto de vista nutricional. En este sentido, Hernández y cols. (1999) establecen que para el lomo curado, de los lípidos totales 81.95% corresponde a la fracción de lípidos neutros, el 18.1% a la de

lípidos polares y un escaso 5.65% a la fracción de ácidos grasos libres. Petrón y cols (2004) describen un contenido en triglicéridos de más del 90% y de fosfolípidos en torno al 4.5% de los lípidos totales para jamones curados de cerdo Ibérico. Por tanto, en el presente trabajo, hemos considerado que la información relativa a los índices nutricionales tiene interés y sentido en el caso de la fracción de lípidos neutros. No obstante en el caso de los lípidos polares, teniendo en cuenta su contribución a los lípidos totales y el elevado contenido en AGPI de esta fracción, se harán igualmente algunas indicaciones.

Con respecto al cociente AGPI/AGS, se recomiendan valores superiores a 0.4 (Reino Unido, Departamento de Salud, 1994), aunque proporciones elevadas de AGPI no serían necesariamente saludables si no se obtiene un cociente n-6/n-3 equilibrado (Simopoulos, 2004). Los valores del cociente AGPI/AGS en los lomos estudiados presentaron valores comprendidos entre 0.10 para los lotes IBxD-CON, DxIB-AOVE e IB-AOVE y 0.12 para los lotes IBxD-AOVE e IB-MON, por tanto muy por debajo de las recomendaciones establecidas. Fernández y cols. (2006) describieron valores entre 0.19 y 0.30 de este cociente en jamones serranos e Ibéricos. Hay que tener en cuenta que los lípidos polares presentan un porcentaje de AGPI mucho más elevado, por lo que el cociente global del alimento sería sin duda más alto. Para el cociente h/H los valores obtenidos fueron desde 1.89 para los lomos del lote IB-AOVE al 2.20 del lote IBxD-AOVE, siendo el cociente de éste último lote significativamente ($p < 0.05$) más “saludable” coincidiendo con los resultados obtenidos para el contenido en AGMI y concretamente para el ácido oleico (C18:1 n-9) que sería el ácido graso hipocolesterolémico más abundante. Fernández y cols. (2006) describieron valores del cociente h/H en jamones serranos e Ibéricos entre 2.0 y 2.67.

Finalmente, en el caso del IA, de nuevo los lomos de lote IB-AOVE obtuvieron los valores significativamente ($p < 0.05$) más elevados (0.57) y por tanto el menos saludable en comparación con el resto de los lotes, mientras que el IA más favorable lo presentaron los lomos del lote IBxD-AOVE (0.48). En el IT no existieron grandes variaciones entre los lotes estudiados, aunque el índice más elevado y por tanto menos saludable lo obtuvieron los lomo del lote IB-MON (5.23) y el menor el lote IBxD-CON (4.04). Ambos índices nutricionales, el IA y el IT, han sido descritos por Badiani y cols. (2002) y Serrano y cols. (2005) en trabajos en los que evaluaron el perfil nutricional del músculo de ternera cocinada y de filete de ternera enriquecida con avellanas respectivamente.

En este punto es necesario considerar que aunque algunos de los cocientes e índices descritos para el lomo curado en el presente trabajo y para el jamón en trabajo anteriores,

no se ajusten a las recomendaciones dietéticas establecidas por las instituciones internacionales, hay que tener en cuenta que estas indicaciones se refieren a recomendaciones de la dieta global y no de un alimento en concreto. Es importante matizar que estas recomendaciones se deben conseguir con el consumo de todos los alimentos incluidos en una dieta equilibrada y no tienen sentido pretender reunir en un único alimento todas las recomendaciones dietéticas propuestas. Por tanto, aquellos aspectos menos saludables de la grasa de los productos de la carne y de los productos del cerdo Ibérico, como sería el lomo curado, no son tan críticos si nos situamos en el contexto de una dieta variada donde se incorporen otras fuentes adicionales de grasa y aceites (García Regueiro, 2003)

En la tabla 3 se presenta el perfil de ácidos grasos así como los diferentes índices nutricionales calculados para la fracción de lípidos polares de los lomos curados.

Los lomos del lote IB-MON presentaron los valores significativamente ($p < 0.05$) más elevados del sumatorio de los AGS, con un 43.48% frente al resto de lotes que presentaron un contenido en AGS entre el 33.62 % del lote DxIB-AOVE y el 34.80% del lote IB-AOVE. Resultados que coinciden con el significativamente ($p < 0.05$) mayor contenido del lote IB-MON en los dos ácidos grasos saturados mayoritarios el C16:0 y el C18:0.

En relación al contenido en AGMI, los valores oscilaron entre el 19.07% y el 22.72%, siendo significativamente ($p < 0.05$) más elevados en los lotes DxIB-AOVE (28.48%) e IB-AOVE (27.95%) como consecuencia del significativamente ($p < 0.05$) mayor contenido en ácido oleico (C18:1 n-9) de ambos lotes (22.05% y 22.72% respectivamente).

Finalmente, para los AGPI, los valores oscilaron entre el 31.88% de los lomos del lote IB-MON y el 45.19% del lote IBxD-CON. Al contenido en AGPI contribuyeron principalmente los AGPI n-6, que al igual que el sumatorio de AGPI, fueron significativamente ($p < 0.05$) mayores en el lote IBxD-CON (41.94%) y significativamente ($p < 0.05$) menores en el lote IB-MON (28.02%) con respecto al resto de lotes. Los dos AGPI n-6 mayoritarios, el ácido linoleico (C18:2 n-6) y el ácido araquidónico (C20:4 n-6) presentaron una tendencia entre los lotes similar a la presentada para el sumatorio de AGPI y de n-6, siendo el contenido más alto el presentado por los lomos del lote IBxD-CON y el menor para los lomos del lote IB-MON. Por último el sumatorio de los AGPI n-3 también presentó diferencias significativas ($p < 0.01$) entre los lotes estudiados, con valores comprendidos entre el 3.01% del lote IB-MON y el 3.52% del lote IBxD-AOVE. De los AGPI n-3, el ácido linolénico (C18:3 n-3) fue significativamente ($p < 0.05$) más elevado en los lotes IBxD e IB, ambos AOVE, mientras que otros AGPI n-3 de cadena larga como el

C20:5 n-3 o EPA fue significativamente ($p<0.05$) mayor en los lomos curados del lote de montanera (IB-MON). Ni el C20:3 n-6 ni el C22:6 n-3 (DHA) fueron detectados en la fracción de lípidos polares de la GIM de los lomos de los lotes IBxD-CON y DxIB-AOVE. Desde el punto de vista nutricional los lomos del lote DxIB-AOVE fueron los que tuvieron un perfil de ácidos grasos de la fracción de lípidos polares más saludable, al presentar el mayor porcentaje de AGMI, el menor en AGS y un contenido en AGPI totales, n-6 y n-3 intermedio. Como se indicó anteriormente la cantidad de lípidos polares que se ingieren al consumir el lomo curado es muy pequeña, de manera que su composición en ácidos grasos (y los índices nutricionales en la medida en que se calculan a partir de los ácidos grasos) tendría una menor repercusión en comparación con la de los lípidos neutros. No obstante, teniendo en cuenta que en la fracción de lípidos polares de los lomos el componente mayoritario son los AGPI, éstos seguramente contribuirían a mejorar la mayoría de los índices considerados en la grasa total (lípidos totales). Aunque en la tabla 3 se han calculado los mismos índices y cocientes que para los lípidos polares, debido a las razones expuestas estos no se discutirán en el presente trabajo.

En la tabla 4 se presenta el perfil de ácidos grasos de la fracción de ácidos grasos libres (AGL) de los lomos curados. Los AGMI fueron el grupo de ácidos grasos más representativo, suponiendo el mayor porcentaje en todos los lotes estudiados, con valores comprendidos entre el 37.83% y el 45.29%, seguido de la suma total de AGS con valores entre el 31.61% y el 33.66%. Finalmente la suma de AGPI fue la que menos representación tuvo en cualquiera de los lotes estudiados, con porcentajes comprendidos entre el 25.06% y el 31.91%. Los tres sumatorios presentaron diferencias significativas ($p<0.001$) entre lotes. En relación a los AGS, el lote IBxD-AOVE fue el que presentó los valores más elevados (33.66%), aunque estas diferencias no fueron significativas con el lote IB-AOVE. Con respecto al total de AGMI y los ácidos grasos mayoritarios, el ácido oleico (C18:1 n-9) y el ácido palmitoleico (C16:1 n-7), el lote IB-AOVE fue el que presentó un contenido significativamente ($p<0.05$) mayor en estos ácidos grasos respecto al resto de lotes estudiados (45.29%, 38.24% y 4.37% respectivamente). Además este mismo lote es el que presentó un contenido significativamente ($p<0.05$) menor en la suma total de AGPI (25.06%), debido principalmente al significativo ($p<0.05$) menor porcentaje en la suma de AGPI n-6 (22.55%) con respecto al resto de lotes consecuencia de los resultados obtenidos para los dos ácido graso n-6 mayoritarios, el C18:2 y el C20:4

Los fenómenos lipolíticos que tienen lugar durante la maduración afectan tanto a la fracción de lípidos neutros como a la de lípidos polares. No obstante, diversos autores

establecen que son los lípidos polares, principalmente los fosfolípidos, los principales sustratos de este tipo de reacciones puesto que el perfil de los AGL, producto de estas reacciones, tiende a asemejarse al perfil de los lípidos polares (Flores y cols., 1985; Moltiva y cols., 1994; Buscailhon y cols., 1994; Gandermer y cols., 2000; Hernández y cols., 1999). En el presente estudio, los AGL se caracterizaron por presentar un perfil de ácidos grasos intermedio entre el de los lípidos neutros y los lípidos polares. Así, la proporción de AGPI fue algo inferior a la de los lípidos polares (tabla 3) pero muy superior a la de los lípidos neutros (tabla 2). Por otra parte, los AGL presentaron igualmente una alta proporción de AGMI y de ácido oleico (C18:1 n-9) lo que coincide con el perfil presentado por la fracción de lípidos neutros (tabla 2). En este sentido, hay que señalar que en músculos de cerdos Ibéricos y Corsos, que presentan un alto contenido en triglicéridos, se ha descrito que la aportación de éstos a la fracción de AGL es importante (30-50%) (Alasnier y cols., 1999; Martín y cols., 1999).

Estudio de los componentes de la fracción insaponificable del lomo curado

En la tabla 5 se presentan los resultados del contenido en colesterol, α -tocoferol y γ -tocoferol de la fracción insaponificable de la grasa intramuscular del músculo *l. dorsi* y del lomo curado de los cinco lotes estudiados.

El contenido en colesterol expresado en mg g^{-1} de grasa tanto en las muestras en fresco (*l.dorsi*) como en las mismas muestras tras el procesado (lomo curado) presentó diferencias significativas ($p < 0.001$) entre los lotes estudiados. No obstante, cuando el contenido en colesterol se expresó en $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de muestra, las diferencias entre lotes únicamente fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$) para los valores obtenidos en el lomo curado.

En el caso del músculo *l.dorsi*, los lomos del lote DxIB-AOVE presentaron el contenido significativamente ($p < 0.05$) más elevado de colesterol ($12.45 \text{ mg colesterol g}^{-1}$ grasa) en relación al resto de lotes (con valores inferiores a $10 \text{ mg colesterol g}^{-1}$ grasa), aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas con el lote IBxD-CON (10.05 mg g^{-1} de grasa). El contenido en colesterol de los lomos del lote IB-MON (6.60 mg g^{-1} de grasa) fue significativamente ($p < 0.05$) inferior al del resto de lotes, a excepción del lote IB-AOVE con el que no presentó diferencias estadísticamente significativas. Cuando los resultados se expresaron en $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de muestra, lo que nos permitiría conocer la cantidad real de colesterol que se consumiría por cada 100 g de lomo fresco, los valores obtenidos fueron desde los $27.53 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de muestra del lote IBxD-CON hasta los $30.88 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de muestra del lote IB-MON. Sin embargo, estas diferencias entre lotes

no fueron estadísticamente ($p > 0.05$) significativas. En un trabajo previo realizado por Antequera y cols. (2005) en el que se analizó el contenido en colesterol de diferentes músculos de cerdos Ibéricos de montanera, se obtuvo para el músculo *l.dorsi* un valor de 27.71 mg 100g⁻¹ de músculo, similar al valor obtenido por el lote IB-MON del presente estudio (30.88 mg 100 g⁻¹ de músculo). Chizzolini y cols. (1999) describieron valores de contenido en colesterol en músculo *l.dorsi* de cerdo comercial con un 3.3% de GIM de 45.5 mg 100 g⁻¹.

En el producto final, los lomos de los lotes IBxD-AOVE y DxIB-AOVE presentaron niveles de colesterol significativamente ($p < 0.05$) superiores (9.15 mg colesterol g⁻¹ grasa y 10.19 mg colesterol g⁻¹ grasa respectivamente) en comparación con los valores presentados por los lomos de los otros tres lotes estudiados IBxD-CON, IB-AOVE e IB-MON que presentaron un contenido de colesterol expresado en mg colesterol g⁻¹ grasa de 7.77, 6.56 y 7.01 respectivamente. Cuando los resultados se expresaron en mg colesterol por 100 g de lomo curado, los valores obtenidos oscilaron desde los 42.47 mg 100 g⁻¹ de lomo curado del lote IBxD-AOVE hasta los 53.10 mg 100 g⁻¹ de lomo curado del lote IBxD-CON. Los valores encontrados en la literatura científica consultada relativa al contenido en colesterol de productos cárnicos curados son superiores a los descritos en el presente trabajo para el lomo curado. Así, para el jamón de Parma se han descrito valores de 80 mg 100 g⁻¹ de muestra (revisado por Chizzolini y cols., 1999), y valores comprendidos entre los 61.6 y los 76.4 mg 100 g⁻¹ de muestra (Zanardi y cols., 2000). En el caso del Jamón Ibérico, Petró y cols. (2003) encontraron valores (entre 29.89 y 34.03 mg 100 g⁻¹ de muestra) ligeramente superiores a los descritos para el lomo curado.

Los resultados obtenidos relativos al contenido en colesterol (tabla 5) (expresados tanto en mg g⁻¹ de grasa como en mg 100 g⁻¹ de muestra) en el músculo *l.dorsi* y en el lomo curado, muestran cómo la presencia de un mayor contenido graso (en GIM) no estaría directamente relacionada con un mayor contenido en colesterol. En el caso del músculo *l. dorsi* los lomos que presentaron un contenido en GIM significativamente ($p < 0.05$) superior (lotes IB-AOVE e IB-MON) fueron los que presentaron menores valores de colesterol en mg g⁻¹ grasa, mientras que el contenido en colesterol expresado en mg 100 g⁻¹ de muestra no presentó diferencias entre los lotes. Para el lomo curado, se observó una tendencia similar y una ausencia de relación entre el contenido en GIM del producto final (tabla 1) y el contenido en colesterol, coincidiendo con los resultados descritos por otros autores (Lewis y cols., 1993; Chizzolini y cols., 1999; Petró y cols., 2003). No obstante otros autores

como Dorado y cols. (1999) describieron que el nivel de colesterol aumentaba a medida que incrementaba el contenido en GIM en muestras de carne de cerdo.

La presencia de colesterol en la dieta está estrechamente relacionada con los alimentos de origen animal puesto que todos ellos presentan colesterol al ser un componente esencial de las membranas de las células animales (Lehninger., 1984). Músculos con un elevado contenido en GIM, presentan proporcionalmente un menor contenido de lípidos polares de membrana (Ventanas y cols. 2006) y por tanto también de colesterol asociado a dichas membranas (Alasnier y cols. 1996). La relación entre la presencia de los fosfolípidos y la del colesterol se atribuye al papel que desempeña éste último en la ordenación física de las cadenas de fosfolípidos contribuyendo de esta forma a mantener la fluidez de las membranas celulares (Lehninger, 1984). El incremento de los niveles de GIM se produce principalmente como consecuencia un incremento del número de gotas de grasa (lípidos neutros) en el interior de de las células grasa o adipocitos y no en incrementos del número de células y por tanto de membranas celulares, lo que supondría más fosfolípidos y colesterol asociado. No obstante, habría que indicar que la presencia del colesterol no se limita exclusivamente a las membranas celulares. De hecho, Kinney Sweeten y cols.(1990) describieron que la distribución del colesterol en la grasa intramuscular del músculo *l.dorsi* de vacuno era de aproximadamente un 55% en el citoplasma y un 45% en las membranas. Contrariamente, en el tejido adiposo describieron una distribución de un 10% en las membranas y un 90% en el citoplasma. En este sentido, en el presente estudio se obtuvieron correlaciones negativas y significativas ($p < 0.01$) entre el % de GIM y el contenido en colesterol (en mg g^{-1} de grasa) del músculo *l.dorsi* y entre el % en GIM y el contenido en colesterol del lomo curado con unos coeficientes de correlación de Pearson (R^2) de -0.527 y -0.570 respectivamente. Además, la ausencia de correlación obtenida entre el % de GIM y el contenido en colesterol expresado en $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de muestra tanto en el músculo *l.dorsi* (coeficiente de correlación de Pearson $R^2 = 0.151$ con el % de GIM en fresco y $R^2 = 0.157$ con el % de GIM en e.s.) como en el lomo curado (coeficiente de correlación de Pearson $R^2 = 0.160$ con el % de GIM en fresco y $R^2 = 0.136$ con el % de GIM en e.s.), confirmaría la falta de relación entre ambos factores en el lomo curado.

Se observó una disminución en todos los lotes del contenido en colesterol (mg g^{-1} de grasa) al comparar los valores obtenidos en el músculo *l.dorsi* y en las mismas muestras en el lomo curado tras el procesado, a excepción del lote IB-MON que presentó valores similares (tabla 5). Estos resultados coinciden con los descritos previamente por Tejeda (1999) y Petró y cols. (2003) que observaron un descenso en el contenido en colesterol al

comparar los resultados obtenidos en el músculo *biceps femoris* y en el mismo músculo en el jamón curado. Estas autores atribuyeron estas diferencias a cambios producidos durante la maduración del producto como consecuencia de los fenómenos de lipólisis y oxidación lipídica. De hecho, Petró y cols. (2003) describieron la presencia de óxidos de colesterol en jamón Ibérico. Si se analizan las pérdidas de colesterol de los diferentes lotes, se observa cómo los lomos del lote IBxD-CON fueron los que experimentaron un descenso más acusado del contenido en colesterol pasando de valores de 10.05 mg g^{-1} de grasa en el *l.dorsi* a valores de 7.77 mg g^{-1} de grasa en el lomo curado. Estos resultados coincidirían con la mayor susceptibilidad a la oxidación descrita para los lomos del lote IBxD-CON (Capítulo II peroxidación inducida), que podría haber contribuido a una mayor oxidación del colesterol y en consecuencia a un menor contenido de este compuesto en el producto final. Aunque el colesterol es una molécula relativamente estable, puede sufrir procesos oxidativos, y de hecho se ha descrito la presencia de productos derivados de la oxidación del colesterol (COPs) en numerosos productos cárnicos entre ellos en jamón Ibérico (Novelli y cols., 1998; Vestergaard y Parolari, 1999; Zanardi y cols., 2000; Petró y cols., 2003; Echarte y cols., 2004). Recientemente estos compuestos han recibido especial atención por la comunidad científica debido a su actividad biológica relacionada con efectos aterogénicos, carcinogénicos, mutagénicos y citotóxicos así como efectos inhibitorios sobre determinadas enzimas metabólicas como la HMG CoA reductasa (Bösinger y cols., 1993; Cheng y cols. 2005).

El papel que desempeña el colesterol de la dieta en los niveles de colesterol plasmático no está del todo establecido, aunque parece que únicamente en aquellas personas con cierta predisposición genética a presentar hipercolesterolemia existe una repercusión de los niveles de colesterol ingeridos en los niveles plasmáticos de este compuesto (Austin, 1997). No obstante, lo que sí se ha demostrado es que un exceso de colesterol en la dieta contribuye a incrementar los efectos de los ácidos grasos saturados sobre las lipoproteínas-colesterol plasmáticas (Kromhout y cols., 1995). Las actuales recomendaciones nutricionales establecen un consumo inferior a 300 mg colesterol /día (U. S. Department of Health and Human Services (HHS) and Department of Agriculture (USDA), 2005).

Se compararon los resultados obtenidos para el lomo curado con los valores de colesterol detectados previamente por Antequera y cols. (2005) utilizando la misma técnica analítica en otros alimentos de referencia (Figura 3). El contenido en colesterol de las muestras de sesos de cordero, de yema de huevo y de mantequilla fue muy superior a las obtenidas para el lomo curado (figura 3 A). En este caso se seleccionaron estos tres tipos de muestras

diferentes porque son productos que presentan de forma habitual niveles de colesterol elevados y que suelen ser la principal fuente de colesterol de la dieta. Los tres primeros productos superaron en todos los casos los 220 mg 100g⁻¹ de muestra, y en el caso de los sesos y la yema de huevo superaron los 100 mg 100 g⁻¹ de muestra, mientras que para el lomo curado el contenido en colesterol obtenido fue de 43.50 mg 100 g⁻¹ de muestra.

En la figura 3 B se comparan el nivel medio de colesterol obtenido para los lomos del presente estudio con el contenido obtenido en las muestras de referencia de pechuga de pollo, ternera y tocino de cerdo Ibérico y comercial (de razas seleccionadas) (Antequera y cols., 2005). Como era previsible, el contenido de colesterol del tocino tanto de cerdo comercial como Ibérico fue superior al obtenido para el resto de muestras analizadas, con valores de 80.25 y 67.37 mg 100 g⁻¹ de muestra respectivamente. Sin embargo, el contenido en colesterol de la pechuga de pollo (57.96 mg 100 g⁻¹ muestra) y del filete de ternera (46.66 mg 100 g⁻¹ de muestra) que se consideran como bajos en colesterol en comparación con la carne de cerdo y sus derivados, presentaron unos valores superiores a los obtenidos para el lomo curado (43.50 mg 100 g⁻¹ muestra), lo que confirmaría los bajos niveles de colesterol presentados por los productos derivados del cerdo Ibérico, que ya habían sido apuntados en estudios previos (Petrón y cols., 2003; Antequera y cols., 2005)

Los resultados obtenidos del contenido en α -tocoferol y γ -tocoferol tanto en *l.dorsi* como en el lomo curado se presentan en la tabla 5.

Para el α -tocoferol los valores obtenidos oscilaron entre 1.38 y 3.11 $\mu\text{g g}^{-1}$ de muestra en el músculo *l.dorsi*, mientras que para el lomo curado los valores oscilaron entre 2.32 y 5.81 $\mu\text{g g}^{-1}$ de muestra. Tanto para las muestras en fresco como para el lomo curado se presentaron diferencias significativas ($p < 0.001$) entre los lotes, y la tendencia observada fue igual en ambos casos. Las muestras procedentes de los cerdos alimentados con piensos suplementados con α -tocoferol presentaron los mayores niveles de este compuesto, seguidos de las muestras del lote IB-MON y por último las del lote IBxD-CON. Estas diferencias en el contenido en α -tocoferol de los lomos curados coinciden con las descritas para el *l.dorsi* en el capítulo I. Zanardi y cols. (2000) encontraron valores de vitamina E en jamón curado de Parma entre un 5.98 mg kg en materia seca para el lote control y un 19.41 mg kg en materia seca para los jamones de cerdos alimentados con una dieta enriquecida con un 6% de aceite y 200 ppm de vitamina E.

Por último las diferencias en el contenido en γ -tocoferol descritas para el músculo *l.dorsi* se mantienen en las muestras de lomo curado, presentando los valores significativamente

($p < 0.05$) más elevados los lomos curados del lote IB-MON ($1.51 \mu\text{g g}^{-1}$ de muestra) como consecuencia de la alimentación en montanera (ver Capítulo I). Por tanto el contenido en γ -tocoferol podría ser un adecuado marcador de la alimentación en montanera que podría emplearse tanto en las muestras en fresco como en el lomo curado.

En la figura 4 se muestran los valores obtenidos para el α -tocoferol en extracto seco en el músculo l. dorsi y en el lomo curado. Aunque se observó una ligera disminución en los niveles detectados como consecuencia del procesado, habría que destacar que los resultados obtenidos indicarían que este compuesto con importante actividad antioxidante no presentó grandes modificaciones por el procesado, detectándose tanto en el músculo en fresco como en el producto curado, lo que tuvo importantes repercusiones en la estabilidad oxidativa de las piezas como se describió en el capítulo II en relación al efecto modulador de los fenómenos de oxidación lipídica y proteica tanto en la materia prima como en el producto final. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Isabel y cols. (1999) en músculo y en jamón curado. Estos autores establecen que la degradación del α -tocoferol es pequeña a pesar de todo el proceso de cambios oxidativos, presencia de sal como prooxidante y las temperaturas elevadas a lo largo del proceso de secado.

III.4. CONCLUSIONES

El contenido en grasa intramuscular y el peso inicial de los lomos condicionan la evolución del porcentaje de mermas a lo largo del proceso de secado-maduración de las piezas así como el nivel de cloruros presentes en el producto final.

Los lomos curados procedentes de cerdos de raza Ibérica pura presentan mayor contenido en grasa intramuscular que los procedentes de cerdos cruzados de Ibérico x Duroc. Como consecuencia del procesado, se produce un descenso del contenido lipídico y del contenido en colesterol pero no así del contenido en α - y γ -tocoferol cuyos niveles se mantienen en el producto final

Factores relacionados con las características de la grasa intramuscular (grado de insaturación y nivel de veteado) así como con el nivel de deshidratación de las piezas durante el procesado influyen en los valores obtenidos para las coordenadas de color CieLab en los lomos curados.

Los lomos procedentes de cerdos Ibéricos de montanera presentan mayor cantidad de mioglobina y de hierro hemínico y por tanto representan una mejor fuente de este elemento en relación al los lomos de cerdos Ibéricos y cruzados explotados en régimen intensivo.

Desde el punto de vista de la salud del consumidor, el perfil en ácidos grasos del lomo curado, principalmente como consecuencia de los altos niveles de AGMI, así como los bajos niveles de colesterol, permitirían incluir a este producto en el grupo de alimentos “saludables” en el contexto de una dieta variada y equilibrada.

III.5. REFERENCIAS

- Alasnier C., David-Brian E. y Gandemer G. (1999). Lipolysis in muscles during refrigerated storage as related to metabolic type of fibres in the rabbit. *Meat Science*, 54, 127-134.
- Andrés A. I., Ruiz J., Mayoral A.I., Tejada J.F. y Cava R. (2000). Influence of rearing conditions and crossbreeding on muscle color in Iberian pigs. *Food Science Technology International*, 6 (4), 315-321.
- Andrés A. I. y Ruiz J. (2001). Tecnología del salazonado del jamón Ibérico (capítulo VIII). En: *Tecnología del jamón Ibérico.: de los sistemas tradicionales a la explotación racional del sabor y el aroma*. Ventanas J. (coordinador). Ed. Mundi-Prensa (Madrid, Barcelona, México), pp: 227-254.
- Antequera T., Ventanas S., Tejada J. F., Petrón M. J., Ruiz J. y Ventanas J. (2005). Colesterol en la carne de cerdo Ibérico. En: *Proceedings III Congreso Mundial del Jamón*, Teruel, Mayo 2005.
- AOAC, Association of Official Analytical Chemist. (1984). Official methods of analysis, 3^a Ed., Washington, D.C. A.O.A.C.: 7060: 160.21.
- Arnau J., Gou P. y Comaposada J. (2003). Effect of the relative humidity of drying air during the resting period on the composition and appearance of dry-cured ham surface. *Meat Science*, 65, 1275-1280.
- Austin M.A. (1997). Triacylglycerol and coronary heart disease. En *Proceedings of the Nutrition society*, 36, 667-670.
- Badiani A., Bitossi F., Gatta P. P., Vignola G. y Chizzolini R. (2002). Lipid composition, retention and oxidation in fresh and completely trimmed beef muscles as affected by common culinary practices. *Meat Science*, 60, 169-186.
- Bligh E. G., y Dyer W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
- Bösinger S., Luf W. y Brandl E. (1993). Oxysterols: their occurrence and biological effects. *International Dairy Journal*, 3, 1-33
- Buscailhon S., Gademer G. y Monin G. (1994). Time-related changes in intramuscular lipids of French dry cured ham. *Meat Science*, 37, 245-255.
- Carrapiso A. I. y García C. (2005). Instrumental colour of Iberian ham subcutaneous fat and lean (*biceps femoris*): Influence of crossbreeding and rearing system. *Meat Science*, 71, 284-290.
- Cheng Y. W., Kang J. J., Shih Y. L., Lo Y. L., Wang C. F. (2005). Cholesterol-3-beta, 5-alpha, 6-beta triol induced genotoxicity through reactive oxygen species formation. *Food and Chemical Toxicology*, 43, 617-622.
- Chizzolini R., Zanardi E., Dorigoni V. y Ghidini S. (1999). Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat meat and meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 119-128.

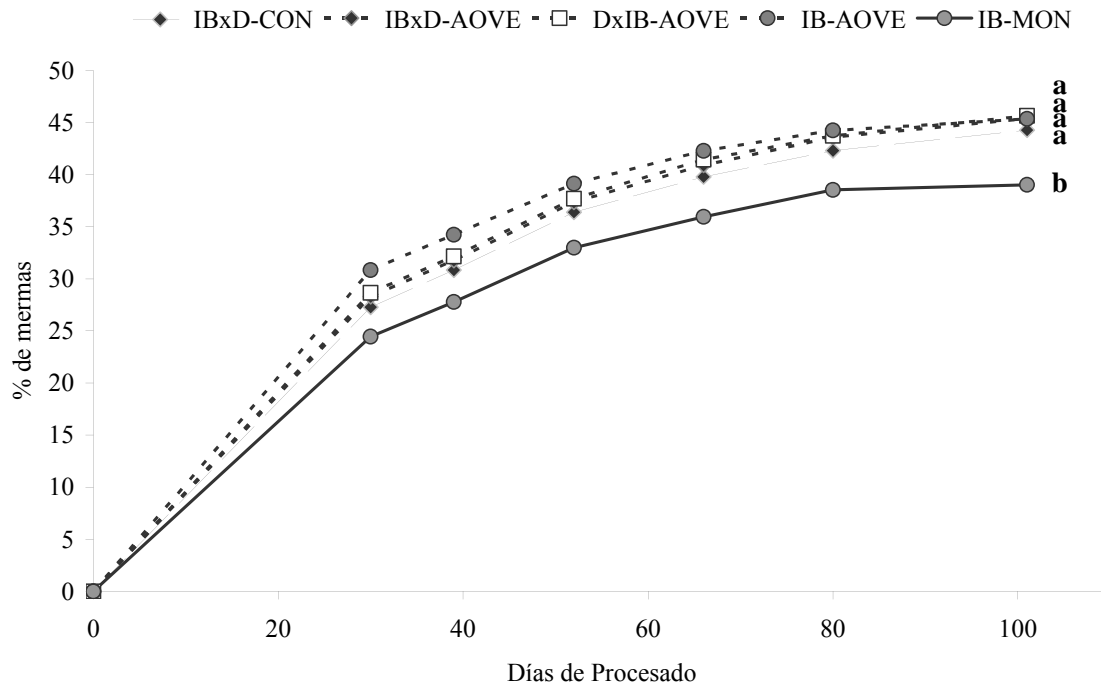
- Departamento de salud, Reino Unido. (1994). Nutritional aspects of cardiovascular disease. *Report on Health and Social Subject* nº 46. London: Her Majesty's Stationery Office.
- U. S. Department of Health and Human Services (HHS) and Department of Agriculture (USDA). (2005). *Dietary Guidelines for America*. (www.health.gov/dietaryguidelines/dga2005).
- Dyerberg J. y Bang H.O. (1979). Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. *Lancet*, 2, 433.
- Dorado M., Martín Gómez E. M., Jiménez-Colmenero F. y Masoud T. A. (1999). Cholesterol and fat contents of Spanish commercial pork cuts. *Meat Science*, 51, 321-323
- E U Commission. (2003). Proposal for a regulation of the proposal of the European Parliament and the Council on Nutrition and health claims of foods. Brussels, 16.07.2003. COM (2003) 424 final, 2003/0165/COD.
- Echarte M., Conchillo A., Ansorena D. y Astiasarán I. (2004). Evaluation of the nutritional aspects and cholesterol oxidation products of pork liver and fish pâtés. *Food Chemistry*, 86, 47-53.
- Estévez M., Morcuende D. y Cava R. (2003). Physicochemical characteristics of M *Longissimus dorsi* from three lines of free-range reared Iberian pigs slaughtered at 90 kg live weight and commercial pigs: a comparative study. *Meat Science*, 64 (4), 499-506.
- Estévez M., Morcuende D., Ramírez R., Ventanas J. y Cava R. (2004). Extensively reared Iberian pigs versus intensively reared white pigs for the manufacture of liver pâté. *Meat Science*, 67, 453-461.
- Fernández M., Ordoñez J. A., Cambero I., Santos C., Pin C. y de la Hoz L. (2006). Fatty acid composition of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications. *Food Chemistry*, en prensa.
- Flores J., Nieto P., Bermell S. y Miralles M.C. (1985). Cambios en los lípidos del jamón durante el proceso de curado lento y rápido, y su relación con la calidad. *Revista Agroquímica y Tecnología de los Alimentos*, 27, 599-607.
- Forero F. J. (2003). *Proceedings II Congreso Mundial del Jamón*. (Cáceres, España).
- Gandemer G., Viau M., Navarro J. L., Sabio E. y Monin G. (2000). Lipides et qualité des jambons secs méditerranéens. En CIHEAM (Ed.), *Tradition and innovation in Mediterranean pig production*, Sargosa, Série A, 41, pp 181-189.
- García Rebollo A. J., Maciá Botejara E., Ortiz Cansado A., Morales Blanco P. J., Martín Bellido M., Fallola Sánchez A., Mena Arias P. y Campillo Alvarez J.E. (1998). Effects of consumption of meat product rich in monounsaturated fatty acids (the ham from the Iberian pig) on plasma lipids. *Nutrition Research*, 18, 743-750.
- García Regueiro. (2003). Ventajas nutricionales del jamón curado (capítulo XIII). En: *Avances en la ciencia, tecnología y comercialización del jamón*. Ventanas J. (coordinador). Edita Conjamón (II Congreso Mundial del Jamón, Cáceres)
- Gou P. y Comaposada J. (1997). La transferencia de agua en el interior del jamón curado durante el proceso de secado. *Eurocarne*, 58, julio, 33-39.
- Gou P. (1998). Dinámica del secado del jamón curado. *Eurocarne* (Simposio especial), 90-106.
- Grundy S. M: (1986). Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol. *The New England Journal of Medicine*, 314, 745-754.

- Guardiola F., Codony R., Rafecas M. y Boatella J. (1994). Selective gas chromatographic determination of cholesterol in eggs. *Journal America Oil Chemist's Society*, 71(8), 867-871.
- Hernández P., Navarro J. L. y Toldrá F. (1999). Lipolytic oxidative changes in two Spanish pork loin products: dry-cured loin and pickled-cured loin. *Meat Science*, 51, 123-128.
- Honikel K.O. (2005). Propuestas para el etiquetado y las alegaciones nutricionales en la Unión Europea. Implicaciones para los Jamones Curados. En: *Actas III Congreso Mundial del Jamón*. Teruel (Spain), Mayo 2005. pp: 151-159.
- Hornsey H. C. (1956). The color of cooked cured pork. 1. Estimation of the nitric oxide-haem pigments. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 7, 534:541.
- Hu F. B., Stampfer M. J., Manson L. L., Rimm L., Colditz G. A., Rosner B. A., Hennekens C. H. y Willet W. C. (1997). Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *The New England Journal of Medicine*, 337, 1491-1499.
- Hu F. B., Manson J. E. y Willet W. C. (2001). Types of dietary fats and risk of coronary Heart disease: a critical review. *Journal of the American College of Nutrition*, 30, 785-807.
- Isabel B., López-Bote C.J., Rey A.I. y Sanz R. (1999). Influence of dietary α -tocopheryl acetate supplementation of pigs on oxidative deterioration and weight in sliced dry-cured ham. *Meat Science*, 51: 227-232
- Jiménez Colmenero F. (2000). Relevant factors in strategies for fat reduction in meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 11, 56-66.
- Keys A., Anderson J. T. y Grande F. (1957). Prediction of serum cholesterol responseto changes in the diet. *Lancet*, 2, 959-966.
- Kinney Sweeten M., Cross H. R., Smith G.C. and Smith S.B. (1990). Subcellular distribution and composition of lipids in muscles and adipose tissues. *Journal of Food Science*, 55, 43-45.
- Kromhout D., Keys A., Menotti A., Blackburn H., Bloemberg B. P. M., Buzina R., Dontas A. S., Fidanza F., Giampaoli S., Jansen A. M., Karvonen M. J., Kafan M. B., Mohacek I., Nissinen A., Nedeljkovic S., Pekkanen J., Pekkarinen M., Punsar S., Räsänen L., Simic B. y Toshima H. (1995). Dietary saturated and trans fatty acids, cholesterol and 25-year mortality from coronary hearth disease. *Prev Med*, 24, 308-315.
- Lehninger A. L. (1984). Lípidos y membranas (capítulo 12). En: *Principios de bioquímica*. Ediciones Omega, S.A., Brcelona.
- Lewis Jr. P. K., Rakes L. K. Y., Brown H. G., Brown Jr., A. H., Johnson Z. y Brown C. J. (1993). Effects of maturation rate, marbling and cooking on the fat, cholesterol and lipid phosphorus composition of Beef muscle. *Journal of Muscle Foods*, 4, 41-56.
- Lindalh G., Lundstrom K y Tornberg E. (2001). Contribution of pigment content, myoglobine forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. *Meat Science*, 59(2), 141-151.
- López Bote C. y Ruiz J. (1997). Carne de cerdo y enfermedad cardiovascular. Perspectivas de manipulación. En: *Biotechnología aplicada a la especie porcina*. Colegio General de Colegios Veterinarios de España. Edición: PUBLIX STUDIO S. L., Madrid. Nº 10, 135-162.

- Martín L., Córdoba J. J., Ventanas J. y Antequera T. (1999). Changes in intramuscular lipids during ripening of Iberian dry-cured ham. *Meat Science*, 51, 129-134.
- Mataix J., Mañas M., Llopis J., Martínez de Victoria E. (2003). Tablas de composición de alimentos españoles. 4ª edición. Universidad de Granada: Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Granada (España).
- Mattson F.H. y Grundy S.M. (1985). Comparison of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *Journal Lipid Research*, 26, 194-197.
- Moltiva M. J., Toldrá F., Nadal M. I. y Flores J. (1994). Prefreezing hams affect lipolysis during dry-cured ham. *Journal of Food Science*, 59, 303-305.
- Morcuende D. (2005). Evaluación tecnológica de la carne de cerdo Duroc y sus cruces con el cerdo Ibérico destinada a la producción de carne fresca y su transformación en productos cárnicos curados. *Tesis Doctoral*. Universidad de Extremadura.
- Moreno Rojas R. (2000). Elementos traza (capítulo 13). En: Nutrición y Dietética para Tecnólogos de los Alimentos. Ediciones Díaz Santos S.A., Madrid.
- Muriel E., Ruiz J., Ventanas J., y Antequera, T. (2002). Free-range rearing increase (n-3) polyunsaturated fatty acids of neutral and polar lipids in swine muscles. *Food Chemistry*, 78, 219-225.
- Muriel E. (2003). Estudio comparativo de parámetros físico-químicos y sensoriales de Lomo Ibérico. *Tesis Doctoral*. Universidad de Extremadura.
- Muriel E., Ruiz J., Ventanas J., Petró M. J. y Antequera T. (2004). Meat quality characteristics in different lines of Iberian pigs. *Meat Science*, 67, 299-307.
- Novelli E., Zanardi E., Ghiretti G. P., Campanini G., Dazzi G. y Madarena G. (1998). Lipid and cholesterol oxidation in frozen stored pork, salame Milano and mortadella. *Meat Science*, 48, 29-40.
- OMS. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation*. WHO Technical Report Series 916, Geneve.
- Petrón M. J., Muriel E., Timón M. L., Martín L. y Antequera T. (2004). Fatty acids and triacylglycerols profiles from different types of Iberian dry-cured hams. *Meat Science*, 68, 71-77.
- Rey A., Lopez-Bote C., Soares M., e Isabel B. (1996). Determination of α -tocopherol in pork with high intramuscular fat content. *Grasas y Aceites*, 47, 331-334.
- Ruiz J., García C., Muriel E., Andres A. I. y Ventanas J. (2002). Influence of sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science*, 61, 347-354.
- Ruiz J., Antequera T., Andres A. I., Petró M.J., y Muriel E. (2004) Improvement of a solid phase extraction method for analysis of triacylglycerols in muscle foods. *Analytica Chimica Acta*, 520, 201-205.
- Sandler S. R., y Karo W. (1992). Source book of advances organic laboratory preparations. Academic Press, San Diego
- Serrano A., Cofrades S., Ruiz-Capillas C., Olmedilla-Alonso B., Herrero-Barbudo C. y Jiménez-Colmenero F. (2005). Nutritional profile of restructured beef steak with added walnuts. *Meat Science*, 70, 647-654.
- Skibsted L.H. (1992). Cured meat products and their Oxidative Stability. En: *The Chemistry of muscle-based Foods*. Ed: Ledward D. A., Johnston D. E. y Knight M. K. The Royal Society of Chemistry. 266,287.

- Simopoulos A.P. (2004). Omega-6/omega-3 essential fatty acids ratio and chronic diseases. *Food Reviews International*, 20, 77-90.
- Tejeda J.F. (1999). Estudio de la influencia de la raza y la alimentación sobre la fracción lipídica intramuscular del cerdo Ibérico. *Tesis Doctoral*, Universidad de Extremadura, 1999.
- Ulbricht T. L. V. y Southgate D. A. T. (1991). Coronary hearth disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338, 985-992.
- Valsta L. M., Tapanainen H y Männistö S. (2005). Meat fats in nutrition- a review. *Meat Science*, 70(3), 525-530.
- Ventanas J. y Cava R. (2001). Dinámica y control del proceso de secado del jamón Ibérico en secaderos y bodegas naturales y en cámaras climatizadas (capítulo IX). En: *Tecnología del jamón Ibérico.: de los sistemas tradicionales a la explotación racional del sabor y el aroma*. Ventanas J. (coordinador). Ed. Mundi-Prensa (Madrid, Barcelona, México), pp: 255-292.
- Ventanas S., Ventanas J., Jurado A. y Estévez M. (2006). Quality traits in muscle *biceps femoris* and backfat from purebred Iberian and reciprocal Iberian x Duroc crossbred pigs. *Meat Science*, aceptado.
- Vestergaard C. y Parolari G. (1999). Lipid and cholesterol oxidation products in dry-cured hams. *Meat Science*, 52, 397-401.
- Wiserman M.J. (1997). Fat and fatty acids in relation to cardiovascular disease: an Overview. *British Journal of Nutrition*, 78 (suppl 1), 3.
- Wood J. D., Richardson R.I., Nute G. R., Fisher A. V., Campo M.M., Kasapidou E., Sheard P. R. y Enser M. (2003). Effects of fatty acid on meat quality: a review. *Meat Science*, 66, 21-32.
- Zanardi E., Novelli E., Ghiretti G. P. y Chizzolini R. (2000). Oxidative stability of lipids and cholesterol in salame Milano, coppa and Parma ham: dietary supplementation with vitamin E and oleic acid. *Meat Science*, 55, 169-175.

Figura 1. Evolución del porcentaje (%) de mermas de los lomos curados estudiados a lo largo del procesado.



Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre lotes

Evolución de la temperatura y de la Humedad Relativa a lo largo del procesado de los lomos.

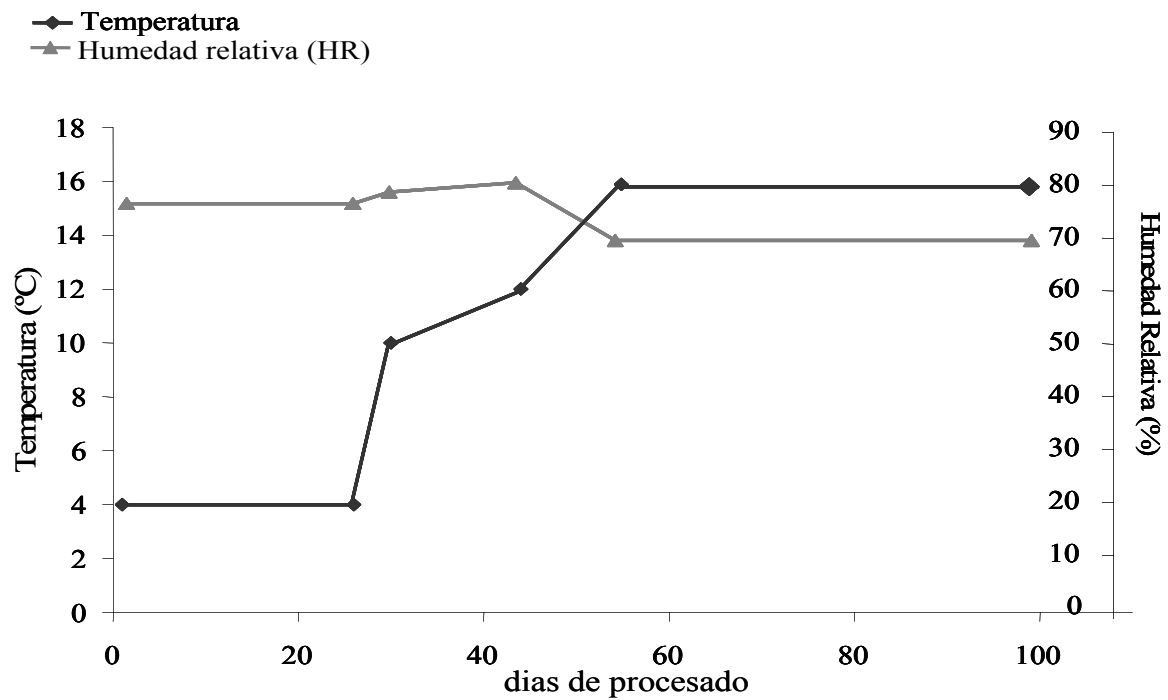


Tabla 1. Contenido (media \pm desviación típica) en grasa intramuscular (GIM), humedad, proteínas y cloruros. Valores CIE L*a*b*, saturación de color (C), tinte (H°) y contenido en mioglobina y en hierro (Fe) hemínico de los lomo curados.

	IBxD-CON	IBxD-AOVE	DxIB-AOVE	IB-AOVE	IB-MON	p ⁴
Humedad	26.5 \pm 3.72	28.00 \pm 1.56	28.32 \pm 3.36	26.12 \pm 1.45	26.83 \pm 1.84	ns
GIM ¹	3.98 ^c \pm 1.05	4.58 ^c \pm 0.79	4.58 ^c \pm 1.15	7.73 ^a \pm 2.17	6.18 ^b \pm 1.43	***
GIM (m.s.)	5.56 ^b \pm 1.69	6.49 ^b \pm 1.55	6.41 ^b \pm 1.55	10.04 ^a \pm 2.55	8.45 ^a \pm 2.02	***
Proteínas ¹	44.40 ^{bc} \pm 2.18	47.79 ^a \pm 1.46	45.81 ^b \pm 2.46	45.24 ^b \pm 0.69	42.85 ^c \pm 2.03	***
Cloruros ¹	2.78 ^{bc} \pm 0.37	2.68 ^c \pm 0.15	2.92 ^{abc} \pm 0.47	3.13 ^{ab} \pm 0.51	3.29 ^a \pm 0.22	**
Cloruros (m.s.)	3.88 ^b \pm 0.49	3.73 ^b \pm 0.18	4.08 ^b \pm 0.46	4.01 ^b \pm 0.26	4.59 ^a \pm 0.32	**
L*	34.5 ^a \pm 2.0	32.86 ^a \pm 1.68	30.34 ^b \pm 1.96	33.92 ^a \pm 2.63	33.27 ^a \pm 1.36	***
a*	10.92 ^a \pm 1.14	10.07 ^{ab} \pm 0.48	9.65 ^{bc} \pm 1.24	9.24 ^{bc} \pm 1.24	8.77 ^c \pm 0.70	***
b*	4.14 ^a \pm 0.92	3.54 ^{ab} \pm 0.52	3.08 ^b \pm 0.56	3.63 ^{ab} \pm 0.99	3.24 ^b \pm 0.36	**
C	11.45 ^a \pm 1.33	10.68 ^{ab} \pm 0.60	9.97 ^{bc} \pm 1.17	10.37 ^{abc} \pm 1.48	9.33 ^c \pm 0.63	**
H°	20.43 ^{ab} \pm 1.94	19.20 ^{ab} \pm 1.92	18.33 ^b \pm 2.37	19.45 ^{ab} \pm 2.49	21.29 ^a \pm 1.39	*
Mioglobina ²	2.73 ^b \pm 0.64	2.93 ^b \pm 0.55	2.77 ^b \pm 0.59	3.46 ^b \pm 0.69	4.69 ^a \pm 1.29	***
Fe hemínico ³	0.87 ^c \pm 0.19	1.03 ^{bc} \pm 0.14	0.93 ^c \pm 0.13	1.17 ^b \pm 0.15	1.33 ^a \pm 0.22	***

¹Expresado en %; m.s.: materia seca. ²Expresada en mg g⁻¹ de muestra. ³Expresado en mg 100 g¹ de muestra. IB: Raza Ibérica pura. IBxD: cruce ♀Ibérico x Duroc, 50%. DxIB: cruce ♀Duroc x Ibérico, 50%. CON: pienso control. AOVE: pienso enriquecido con girasol alto oleico y suplementado con α -tocoferol. MON: montanera.

⁴Nivel de significación: * p<0.05; ** p<0.01; *** p< 0.001; ns= no significativo. Distintas letras en la misma fila indican diferencias significativas entre lotes (p<0.05)

Tabla 2. Composición en ácidos grasos (expresado en % de ésteres metílicos) e índices nutricionales de la fracción de lípidos neutros de la grasa intramuscular de los lomos curados.

	IBxD-CON	IBxD-AOVE	DxIB-AOVE	IB-AOVE	IB-MON	SEM ¹	P ²
% FAMES							
C10	0.38 ^b	0.36 ^b	0.44 ^{ab}	0.48 ^a	0.44 ^{ab}	0.011	0.005
C12	0.13 ^c	0.14 ^{bc}	0.17 ^a	0.16 ^{ab}	0.14 ^{bc}	0.004	0.000
C14	1.42 ^b	1.33 ^b	1.50 ^b	1.74 ^a	1.50 ^b	0.031	0.000
C14:1	0.03 ^c	0.07 ^{ab}	0.06 ^b	0.08 ^a	0.07 ^{ab}	0.003	0.000
C15	0.07 ^{ab}	0.08 ^a	0.08 ^a	0.07 ^a	0.06 ^b	0.002	0.004
C16	25.57 ^b	24.46 ^b	25.43 ^b	26.79 ^a	25.42 ^b	0.156	0.000
C16:1	4.55 ^{ab}	4.20 ^b	4.33 ^b	4.89 ^a	4.58 ^{ab}	0.067	0.015
C17	0.18 ^{ab}	0.21 ^a	0.19 ^{ab}	0.19 ^{ab}	0.17 ^b	0.005	0.045
C17:1	0.24	0.21	0.25	0.22	0.21	0.006	0.277
C18	11.03	10.78	10.86	10.80	10.44	0.097	0.418
C18:1 (n-9)	51.43 ^{ab}	51.82 ^a	51.20 ^{ab}	49.45 ^c	50.05 ^{bc}	0.206	0.000
C18:1 (n-7)	0.36 ^a	0.30 ^b	0.35 ^a	0.33 ^a	0.23 ^b	0.011	0.000
C18:2 (n-6)	2.92 ^b	3.81 ^a	3.31 ^{ab}	3.47 ^{ab}	3.82 ^a	0.080	0.000
C18:3 (n-6)	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.001	0.474
C18:3 (n-3)	0.17 ^c	0.24 ^{ab}	0.21 ^{ab}	0.21 ^{bc}	0.25 ^a	0.006	0.000
C:20	0.28 ^{ab}	0.29 ^a	0.28 ^a	0.27 ^{ab}	0.26 ^b	0.003	0.016
C20:1	0.93 ^a	0.84 ^{ab}	0.74 ^b	0.81 ^{ab}	0.87 ^{ab}	0.021	0.057
C20:2 (n-6)	0.19 ^{ab}	0.21 ^a	0.21 ^a	0.18 ^b	0.21 ^{ab}	0.004	0.015
C20:3 (n-3)	0.08 ^a	0.03 ^c	0.09 ^a	0.07 ^{ab}	0.05 ^{bc}	0.004	0.000
C20:3 (n-6)	0.00 ^b	0.08 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	0.07 ^a	0.005	0.000
C20:4 (n-6)	0.16 ^{ab}	0.18 ^a	0.16 ^{ab}	0.14 ^c	0.16 ^{ab}	0.004	0.107
C21	0.06	0.07	0.06	0.05	0.06	0.002	0.159
C22:1	0.03	0.04	0.03	0.03	0.04	0.001	0.438
C22 + EPA(n-3)	0.04 ^b	0.07 ^a	0.04 ^b	0.04 ^b	0.05 ^b	0.002	0.000
C22:4 (n-6)	0.03 ^b	0.04 ^a	0.03 ^b	0.03 ^{ab}	0.05 ^a	0.002	0.001
C24 + C22:5 (n-3)	0.06 ^b	0.08 ^a	0.06 ^b	0.06 ^b	0.06 ^b	0.002	0.001
C22:6 (n-3)	0.01 ^b	0.03 ^a	0.01 ^b	0.01 ^b	0.02 ^b	0.001	0.000
Σ AGS (34.9) ^a	39.34 ^b	37.86 ^c	39.34 ^b	40.65 ^a	38.90 ^{bc}	0.176	0.000
Σ AGMI (57.2) ^a	56.66 ^{ab}	57.25 ^a	56.66 ^{ab}	55.51 ^b	55.89 ^b	0.160	0.004
ΣAGPI (6.76) ^a	4.12	4.72	4.12	4.20	4.62	0.082	0.032
Σn-6 (5.99) ^a	3.39 ^c	4.46 ^a	3.83 ^{ab}	3.92 ^{ab}	4.46 ^a	0.078	0.000
Σn-3 (0.64) ^a	0.42	0.44	0.42	0.39	0.43	0.007	0.262
INDICES NUTRICIONALES							
Σ PUFA/ΣSFA (0.19) ^a	0.10 ^b	0.12 ^a	0.10 ^b	0.10 ^b	0.12 ^{ab}	0.002	0.003
Σ n-6/Σn-3(9.36) ^a	9.40 ^{ab}	10.2 ^{ab}	9.17 ^b	10.01 ^{ab}	10.43 ^a	0.146	0.014
h/H cociente ³ (2.52) ^a	2.06 ^b	2.20 ^a	2.06 ^b	1.89 ^c	2.04 ^b	0.018	0.000
IA ⁴ (0.53) ^b	0.52 ^b	0.48 ^c	0.52 ^b	0.57 ^a	0.52 ^b	0.005	0.000
IT ⁵ (1.22) ^b	4.04 ^b	4.99 ^a	4.52 ^{ab}	4.94 ^a	5.23 ^a	0.094	0.000

¹SEM: Error estándar de la media. ²p: nivel de significación. ³Cociente h/H: cociente ácidos grasos hipocolesterolémicos (h)/ ácidos grasos hipercolesterolémicos (H). ⁴IA: Índice Aterogénico. ⁵IT: Índice Trombogénico. ^a Valores de referencia en jamón Ibérico “Dehesa de Extremadura” (Fernández y cols., 2006, en prensa. ^b Valores de referencia en filetes de ternera reestructurados (Serrano y cols. 2005)

IB. Raza Ibérica pura. IBxD: cruce ♀Ibérico x Duroc, 50%. DxIB: cruce ♀Duroc x Ibérico, 50%. CON: pienso control. AOVE: pienso enriquecido con girasol alto oleico y suplementado con α-tocoferol. MON: montanera.

Distintas letras en superíndices en la misma línea indican diferencias significativas (p<0.05) entre medias.

Tabla 3. Composición en ácidos grasos (expresado en % de ésteres metílicos, FAMES) e índices nutricionales de la fracción de lípidos polares de la grasa intramuscular de los lomos curados.

	IBxD-CON	IBxD-AOVE	DxIB-AOVE	IB-AOVE	IB-MON	SEM	<i>p</i>
% FAMES							
C12:0	2.24 ^{ab}	2.36 ^{ab}	1.92 ^b	2.49 ^{ab}	2.76 ^a	0.079	0.011
C14:0	1.63	1.46	1.65	1.68	1.83	0.054	0.354
C14:1	1.12 ^b	1.88 ^b	3.14 ^a	1.76 ^b	1.52 ^b	0.140	0.000
C15:0	0.74 ^c	1.47 ^b	0.99 ^{bc}	1.30 ^b	3.29 ^a	0.129	0.000
C16:0	17.39 ^b	17.15 ^b	17.98 ^b	17.47 ^b	20.09 ^a	0.204	0.000
C16:1	2.13	2.15	2.39	2.30	2.48	0.082	0.612
C17:0	0.39 ^c	0.63 ^b	0.36 ^{bc}	0.47 ^c	1.52 ^a	0.060	0.000
C17:1	0.34 ^{bc}	0.60 ^a	0.24 ^c	0.57 ^a	0.51 ^{ab}	0.029	0.000
C18:0	9.05 ^b	9.22 ^b	8.70 ^b	9.09 ^b	11.38 ^a	0.183	0.000
C18:1 (n-9)	19.07 ^c	20.39 ^{bc}	22.05 ^{ab}	22.72 ^a	19.24 ^c	0.315	0.000
C18:2 (n-6)	28.34 ^a	22.72 ^c	25.43 ^b	22.91 ^c	18.09 ^d	0.512	0.000
C18:3 (n-6)	0.31 ^b	0.45 ^a	0.28 ^b	0.36 ^b	0.00 ^c	0.021	0.000
C18:3 (n-3)	0.40 ^b	0.56 ^a	0.39 ^b	0.56 ^a	0.31 ^b	0.020	0.000
C:20	0.22 ^b	0.30 ^b	0.24 ^b	0.45 ^a	0.29 ^b	0.019	0.000
C20:1	0.63 ^b	0.68 ^b	0.65 ^b	0.86 ^a	0.78 ^{ab}	0.024	0.006
C20:2 (n-6)	0.84 ^a	0.55 ^{bc}	0.42 ^c	0.74 ^{ab}	0.81 ^a	0.033	0.000
C20:3 (n-3)	0.98 ^a	0.52 ^b	0.86 ^a	0.83 ^a	0.50 ^b	0.031	0.000
C20:3 (n-6)	0.00 ^c	0.74 ^a	0.00 ^c	0.78 ^a	0.59 ^b	0.047	0.000
C20:4 (n-6)	9.92 ^a	9.88 ^a	9.77 ^a	8.39 ^b	7.26 ^b	0.213	0.000
C22 + EPA (n-3)	0.60 ^b	0.69 ^{ab}	0.59 ^b	0.68 ^{ab}	0.80 ^a	0.024	0.027
C22:2	0.29 ^b	0.60 ^a	0.23 ^b	0.33 ^b	0.58 ^a	0.026	0.000
C22:4 (n-6)	2.53 ^a	1.84 ^b	1.71 ^{bc}	1.50 ^{cd}	1.27 ^d	0.068	0.000
C24 + C22:5 (n-3)	1.40 ^a	1.36 ^{ab}	1.23 ^{ab}	1.18 ^{ab}	1.14 ^b	0.029	0.011
C22:6 (n-3)	0.00 ^d	0.39 ^a	0.00 ^d	0.16 ^c	0.26 ^b	0.021	0.000
Σ AGS	33.65 ^b	34.73 ^b	33.62 ^b	34.80 ^b	43.48 ^a	0.544	0.000
Σ AGMI	23.30 ^c	25.70 ^b	28.48 ^a	27.95 ^a	24.46 ^{bc}	0.340	0.000
ΣAGPI	45.19 ^a	40.30 ^b	40.89 ^b	38.41 ^b	31.88 ^c	0.665	0.000
Σn-6	41.94 ^a	36.18 ^b	37.62 ^b	34.67 ^b	28.02 ^c	0.545	0.000
Σn-3	3.38 ^{ab}	3.52 ^a	3.03 ^b	3.41 ^{ab}	3.01 ^b	0.055	0.005
INDICES NUTRICIONALES							
Σ PUFA/ΣSFA	1.35 ^a	1.16 ^b	1.23 ^{ab}	1.11 ^b	0.73 ^c	0.032	0.000
Σ n-6/Σn-3	12.50 ^a	10.38 ^b	12.42 ^a	10.51 ^b	9.37 ^b	0.189	0.000
h/H cociente ³	3.31 ^a	3.18 ^a	3.16 ^a	3.11 ^a	2.24 ^b	0.062	0.000
IA ⁴	0.38 ^b	0.39 ^b	0.39 ^b	0.41 ^b	0.54 ^a	0.011	0.000
IT ⁵	25.45 ^a	22.39 ^{bc}	23.45 ^{bc}	21.83 ^c	24.38 ^{ab}	0.271	0.000

¹SEM: Error estándar de la media. ²*p*: nivel de significación. ³Cociente h/H: cociente ácidos grasos hipocolesterolémicos (h)/ ácidos grasos hipercolesterolémicos (H). ⁴ IA: Índice Aterogénico. ⁵ IT: Índice Trombogénico.

IB. Raza Ibérica pura. IBxD: cruce ♀Ibérico x Duroc, 50%. DxIB: cruce ♀Duroc x Ibérico, 50%. CON: pienso control. AOVE: pienso enriquecido con girasol alto oleico y suplementado con α-tocoferol. MON: montanera

Distintas letras en superíndices en la misma línea indican diferencias significativas (*p*<0.05) entre medias.

Tabla 4. Composición en ácidos grasos (expresado en % de ésteres metílicos, FAMES) e índices nutricionales de la fracción de ácidos grasos libres (AGL) de la grasa intramuscular de los lomos curados.

	IBxD-CON	IBxD-AOVE	DxIB-AOVE	IB-AOVE	IB-MON	SEM ¹	P ²
% FAMES							
C10	1.38 ^b	3.45 ^a	1.09 ^c	1.36 ^b	0.00 ^d	0.140	0.000
C12	0.51 ^b	0.53 ^b	0.53 ^b	0.89 ^a	0.42 ^b	0.028	0.000
C14	1.57 ^a	1.30 ^b	1.35 ^b	1.67 ^a	1.31 ^b	0.031	0.000
C14:1	0.33 ^{bc}	0.28 ^c	0.50 ^a	0.41 ^{ab}	0.26 ^c	0.019	0.000
C15	0.47	0.47	0.55	0.58	0.48	0.016	0.106
C15:1	0.96 ^a	0.84 ^{ab}	1.03 ^a	0.90 ^{ab}	0.71 ^b	0.027	0.001
C16	16.61 ^{ab}	16.09 ^b	16.20 ^b	16.72 ^{ab}	17.12 ^a	0.103	0.009
C16:1	3.93 ^{ab}	3.20 ^c	3.02 ^c	4.37 ^a	3.46 ^{bc}	0.094	0.000
C17	0.50 ^{ab}	0.44 ^{bc}	0.55 ^a	0.51 ^{ab}	0.40 ^c	0.012	0.000
C17:1	0.42 ^b	0.33 ^b	0.41 ^b	0.51 ^a	0.35 ^b	0.013	0.000
C18	10.08 ^{ab}	9.55 ^{ab}	10.28 ^a	9.33 ^b	9.96 ^{ab}	0.106	0.022
C18:1 (n-9)	34.72 ^b	33.82 ^b	31.60 ^b	38.24 ^a	33.81 ^b	0.475	0.000
C18:2 (n-6)	20.57 ^a	19.38 ^a	19.90 ^a	15.88 ^b	18.97 ^a	0.329	0.000
C18:3 (n-6)	0.35 ^a	0.20 ^c	0.28 ^b	0.18 ^c	0.18 ^c	0.012	0.000
C18:3 (n-3)	0.52 ^b	0.44 ^{bc}	0.49 ^b	0.52 ^b	0.66 ^a	0.013	0.000
C:20	0.18 ^{ab}	0.14 ^b	0.23 ^a	0.21 ^a	0.16 ^b	0.007	0.000
C20:1	0.89 ^a	0.65 ^b	0.76 ^b	0.86 ^a	0.88 ^a	0.021	0.000
C20:2(n-6)	0.35	0.36	0.36	0.35	0.38	0.005	0.197
C20:3 (n-3)	0.81 ^a	0.21 ^c	0.80 ^a	0.55 ^b	0.17 ^c	0.038	0.000
C20:3 (n-6)	0.00 ^c	0.78 ^a	0.00 ^c	0.66 ^b	0.68 ^b	0.046	0.000
C20:4 (n-6)	6.73 ^{ab}	6.87 ^{ab}	7.47 ^a	5.04 ^c	6.10 ^b	0.160	0.000
C22 + EPA (n-3)	0.29 ^{ab}	0.35 ^b	0.26 ^b	0.33 ^{ab}	0.45 ^a	0.012	0.000
C22:4 (n-6)	0.81 ^a	0.69 ^b	0.68 ^b	0.44 ^a	0.53 ^a	0.022	0.000
C24 + C22:5 (n-3)	0.94 ^b	1.33 ^a	1.15 ^{ab}	1.04 ^b	1.30 ^a	0.032	0.000
C22:6(n-3)	0.00 ^d	0.22 ^b	0.00 ^d	0.08 ^c	0.30 ^a	0.016	0.000
Σ AGS	32.51 ^b	33.66 ^a	32.17 ^b	32.64 ^{ab}	31.61 ^b	0.157	0.001
Σ AGMI	41.21 ^b	39.13 ^{bc}	37.86 ^c	45.29 ^a	40.05 ^{bc}	0.485	0.000
ΣAGPI	31.91 ^a	30.84 ^a	31.38 ^a	25.06 ^b	29.73 ^a	0.461	0.000
Σn-6	28.81 ^a	28.28 ^a	28.68 ^a	22.55 ^b	26.85 ^a	0.451	0.000
Σn-3	2.56 ^{ab}	2.56 ^{ab}	2.70 ^{ab}	2.51 ^b	2.89 ^a	0.042	0.025

¹SEM: Error estándar de la media. ²p: nivel de significación.

IB: Raza Ibérica pura. IBxD: cruce ♀Ibérico x Duroc, 50%. DxIB: cruce ♀Duroc x Ibérico, 50%. CON: pienso control. AOVE: pienso enriquecido con girasol alto oleico y suplementado con α -tocoferol. MON: montanera

Distintas letras en superíndices en la misma línea indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre medias.

Tabla 5. Niveles de colesterol, α -tocoferol y γ -tocoferol de la fracción insaponificable de la grasa intramuscular del músculo *l.dorsi* y del lomo curado de cerdos de raza Ibérica pura (IB) explotados en montanera (MON) o en intensivo con piensos AOVE, de cerdos cruzados de madre Ibérica (IBxD) explotados en intensivo con piensos comerciales (CON) o piensos AOVE y de cerdos cruzados de madre Duroc (DxIB) alimentados con piensos AOVE.

	IBxD-CON	IBxD-AOVE	DxIB-AOVE	IB-AOVE	IB-MON	S
Colesterol						
<i>l. dorsi</i> ¹	10.05ab ± 1.95	9.69b ± 2.44	12.45a ± 4.09	8.62bc ± 1.59	6.60c ± 0.88	***
<i>l. dorsi</i> ²	27.53 ± 3.45	30.67 ± 3.75	28.78 ± 3.22	30.32 ± 2.52	30.88 ± 3.37	n.s.
lomo curado ¹	7.77b ± 1.18	9.15a ± 1.50	10.19a ± 1.59	6.56b ± 1.33	7.01b ± 1.28	***
lomo curado ²	53.10a ± 12.62	42.47b ± 7.65	46.6ab ± 6.42	48.53ab ± 7.56	43.5b ± 5.69	*
α-Tocoferol³						
<i>l. dorsi</i>	1.38 ^c ± 0.29	2.94 ^a ± 0.48	2.91 ^a ± 0.50	3.11 ^a ± 0.43	1.91 ^b ± 0.76	***
lomo curado	2.32b ± 0.62	5.12a ± 0.69	5.81a ± 1.79	5.51a ± 1.58	2.99b ± 0.72	***
γ-Tocoferol³						
<i>l. dorsi</i>	0.07 ^b ± 0.01	0.08 ^b ± 0.02	0.06 ^b ± 0.02	0.07 ^b ± 0.02	0.58 ^a ± 0.18	***
lomo curado	0.11b ± 0.02	0.06b ± 0.01	0.07b ± 0.02	0.06b ± 0.01	1.51a ± 0.76	***

¹Contenido en colesterol expresado en mg colesterol g⁻¹ de grasa. ² Contenido en colesterol expresado en mg 100 g⁻¹ de muestra.

³Contenido en tocoferol expresado en μ g g⁻¹ de muestra.

S: nivel de significación; * p < 0.05, *** p < 0.001, n.s.: no significativo. Distintas letras en superíndices en la misma línea indican diferencias significativas (p < 0.05) entre medias.

IB. Raza Ibérica pura. IBxD: cruce ♀ Ibérico x Duroc, 50%. DxIB: cruce ♀ Duroc x Ibérico, 50%. CON: pienso control. AOVE: pienso enriquecido con girasol alto oleico y suplementado con α -tocoferol. MON: montanera

Figura 2 Cromatograma correspondiente a la detección de colesterol en lomo curado.

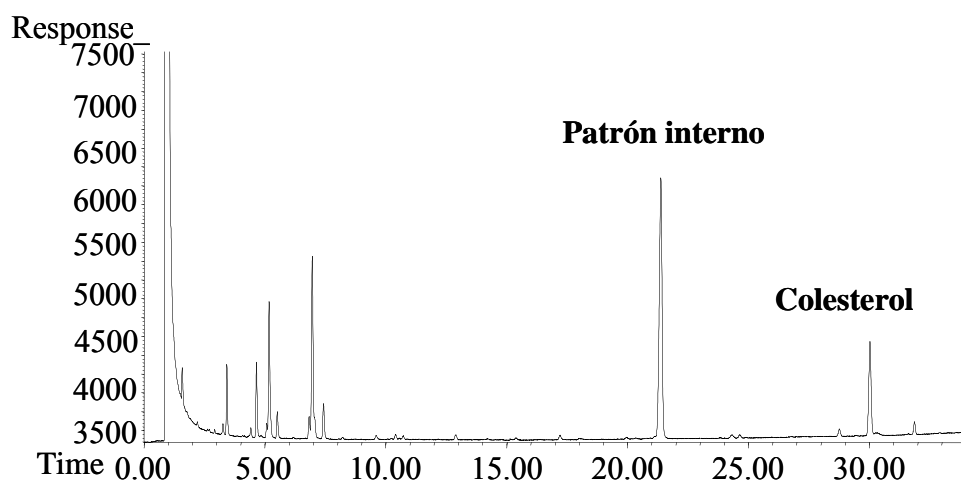
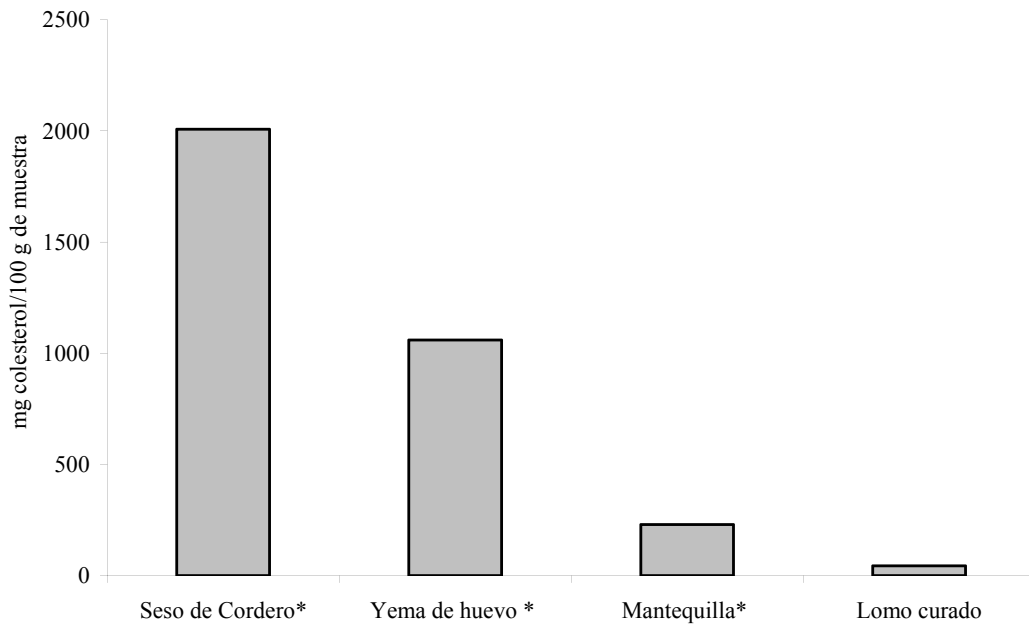
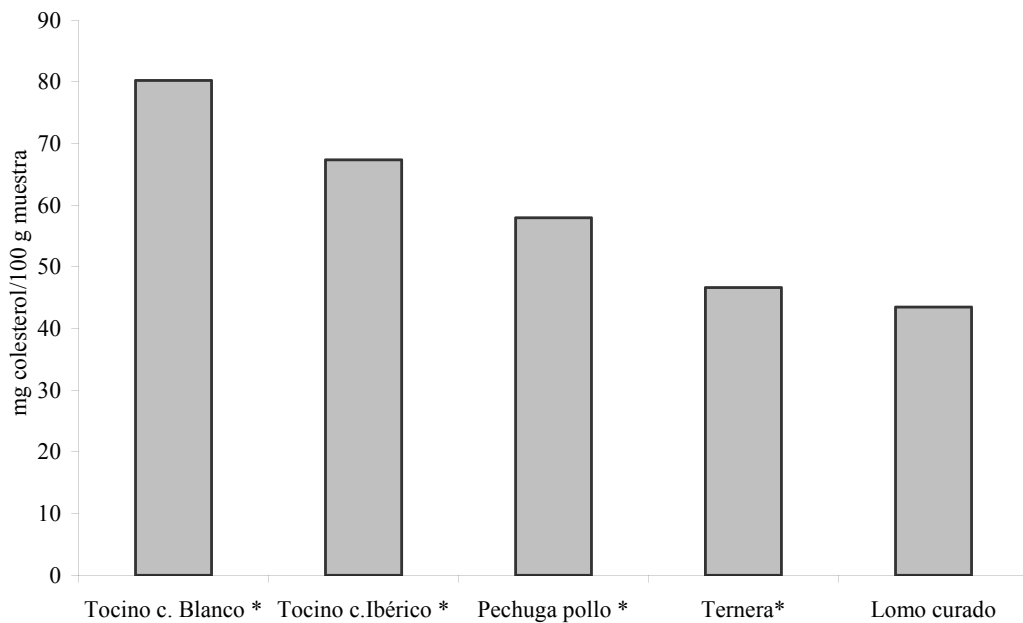


Figura 3. Contenido en colesterol (mg 100 g⁻¹ de muestra) en diferentes alimentos de origen animal incluido el lomo curado.

(A) Comparación entre los niveles detectados en lomo curado y en muestras de referencia que presentan habitualmente alto contenido el colesterol (seso de cordero, yema de huevo y mantequilla).

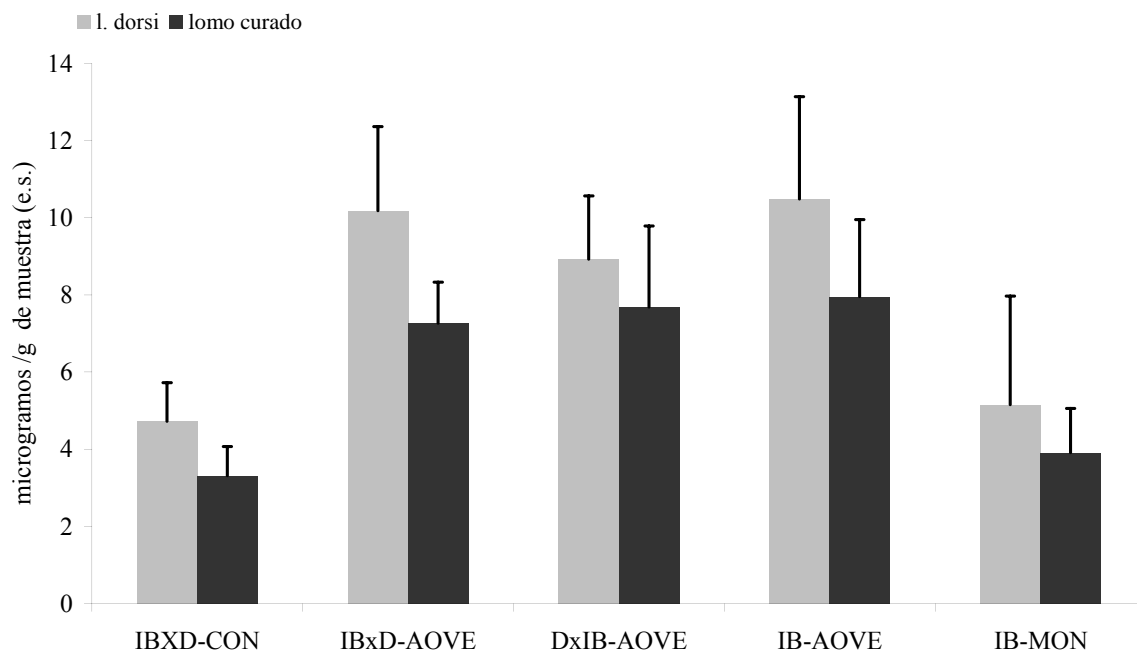


(B) Comparación del contenido en colesterol del lomo curado con los niveles encontrados en pechuga de pollo, filete de ternera y tocino de cerdo blanco y de cerdo Ibérico.



* Adaptado de Antequera y cols (2005).

Figura 4. Niveles de α -tocoferol presentes en el músculo *l. dorsi* y en el lomo curado expresados en $\mu\text{g g}^{-1}$ muestra en extracto seco.



CAPÍTULO IV

SENSORY CHARACTERISTICS OF IBERIAN DRY- CURED LOINS: INFLUENCE OF CROSSBREEDING AND REARING SYSTEM*

* Aceptado con correcciones en *Meat Science*

Abstract

The sensory characteristics of Iberian dry-cured loins and the influence of crossbreeding (pure Iberian –IB-, Iberian female x Duroc male –IBxD- and Duroc female x Iberian male –DxIB) and rearing system (outdoors fed on acorns and pasture –MON-, indoors fed on concentrates high in oleic acid sunflower oil and supplemented with 250 mg/kg of α -tocopherol acetate –HOVE- and indoors fed on control concentrates –CON-) on sensory attributes were studied. Dry-cured loins from IB-MON and IB-HOVE pigs, which showed the highest intramuscular fat (IMF) content ($p < 0.01$), reached higher scores for brightness, marbling traits (intensity, size and shape) and juiciness, and lower for hardness, dryness and fibrousness than loins from crossbred pigs (IBxD-HOVE, IBxD-CON and DxIB-HOVE). In fact, IMF content was positively linked to juiciness and marbling attributes and negatively to dryness, hardness and fibrousness, which was also observed in the Principal Component Analysis (PCA). Neither the crossbreeding nor the rearing system seemed to influence odour, flavour and taste features. The PCA evidenced that dry-cured loins from IB-MON and IB-HOVE batches gathered together and were placed near to marbling attributes, juiciness and IMF content.

Keywords: Sensory Analysis, Dry-cured Loins, Crossbreeding, IMF, Rearing System.

IV.1. INTRODUCTION

Dry-cured meat products from Iberian pigs, mainly hams and loins, are highly rated by Spanish consumer, because of their unique sensory features, which are a consequence of both the characteristics of the raw material, especially lipid-related ones, and the particular processing conditions (Ventanas, Ventanas, Ruiz & Estévez., 2005).

The most appreciated and expensive hams and loins are those from pure Iberian pigs reared outdoors and fed on the natural resources provided by the environment, mainly acorns and grass, in the so-called “montanera” system (Lopez-Bote, 1998). However, this rearing system is available only for a limited number of pigs and during 3-4 months a year, since acorns are only available from late November to March. Therefore, Iberian pigs are also reared indoors and fed on mixed diets in order to fulfil the increasing demand of consumers towards this type of dry-cured products. Moreover, the crossbreeding of Iberian pigs with Duroc breed pigs is frequently used to improve some productive characteristics (Lopez-Bote, 1998). These two modifications of the traditional rearing system lead to derived Iberian dry-cured meat products considered by consumers of lower sensory quality

compared to those from pure Iberian pigs reared outdoors (Lopez-Bote., 1998; Garcia et al., 1996). In order to avoid commercial fraud and to guarantee the consumers rights, the Spanish Ministry of Agriculture, Fishery and Food has enacted a law, called “Quality Policy”, to regulate the market of Iberian dry-cured products (Boletin Oficial del Estado, 2001). In this sense, ham and loins labelled as “Iberian” must derive from Iberian pure pigs or from crossbred (Iberian x Duroc) pigs (50%). In the case of crossbreeding, the maternal line must be pure Iberian sows and the genetic (Iberian pure or crossbred pig) and the feeding background during the fattening period (“montanera”, “montanera” supplemented with concentrates or exclusively fed on mixed diet) must be shown in the label of the Iberian dry-cured product.

Feeding Iberian pigs with monounsaturated fatty acids (MUFA)-enriched diets through the inclusion of high oleic acid sunflower oil for obtaining a similar muscle fatty acid profile to that of pigs fed on acorns, has been pointed out as a successful strategy for improving the sensory and technological quality of dry-cured products from pigs fed on concentrates (Isabel, Lopez-Bote, de la Hoz, Timón, García & Ruiz, 2005; Muriel, Ruiz, Petró, Andrés & Antequera, 2003; Ventanas, Estévez, Tejeda & Ruiz, 2006).

The α -tocopherol content in muscles of Iberian pigs reared outdoors is higher than that of pigs fed indoors on commercial concentrates, due to the high α -tocopherol content of grass (Rey, Isabel, Cava & López-Bote, 1998; Ventanas et al, 2005). The beneficial effect of the presence of α -tocopherol in muscle cells membranes of dry-cured meat products against lipid and protein oxidative reactions is well documented (Daza, Rey, Ruiz & López-Bote, 2005; Ventanas et al., in press). The effect of feeding elevated concentrations of MUFA and vitamin E on sensory characteristic of dry-cured hams from commercial breed pigs reared intensively has been previously studied (Isabel et al., 2003). However, no studies dealing with the effect of those feeding strategies on the sensory features of dry-cured meat products from Iberian pigs compared to those from pigs reared outdoors are available in the scientific literature.

Although Spanish consumers consider dry-cured hams and loins from crossbred pigs (Iberian x Duroc) of lower quality than those from Iberian pure breed, no scientific study has confirmed this observation. Moreover, no study has been aimed to investigate the effect of using Iberian pure (demanded by the “Quality Policy”) or Duroc breed as maternal line for crossbred pigs (Iberian x Duroc) (50%) on the overall quality of the derived dry-cured products. The objective of the present work was to study the influence of

crossbreeding and rearing system on the sensory features of dry-cured loins, with special attention to the role of the IMF content in the sensory attributes.

IV.2. MATERIALS AND METHODS

IV.2.1. Animals and diets

This study was carried out with 24 pure Iberian pigs (IB), 24 Iberian x Duroc crossbred pigs (IBxD) (Iberian females and Duroc males according to “Quality Policy”) and 13 Duroc x Iberian crossbreed pigs (DxIB) (Duroc females and Iberian males) with an initial weight of 80 Kg. Pigs were divided into five batches according to the type of crossbreeding and feeding system during the finish-fattening period (60 days prior to slaughter). 12 IB pigs were reared outdoors and exclusively fed on available acorn and grass according to the traditional ‘montanera’ feeding system (IB-MON). The rest of IB pigs (n=12), 11 IBxD pigs and all DxIB pigs (n=13) were reared indoors and fed on concentrates containing high oleic sunflower oil (57.5 g kg⁻¹ of diet) and supplemented with 250 mg kg⁻¹ of α -tocopherol acetate (IB-HOVE, IBxD-HOVE and DxIB-HOVE respectively). Finally, 13 IBxD pigs were reared indoors and fed on commercial concentrates as a control batch (IBxD-CON). Animals were slaughtered by electrical stunning and exsanguination at a local slaughterhouse after the fattening period at a live weight of 165-175 kg.

IV.2.2. Sampling and processing

Sampling was carried out within an hour of slaughter. *Longissimus dorsi* (*l.dorsi*) muscle was removed from the carcass and frozen until processing. Dry-cured loins were processed using the caudal half of the *l. dorsi* of all animals. Processing was carried out at a commercial plant as follows: loins were seasoned with a mixture of salt (2.5%), nitrites and sugar (0.7%) and water (1%). Garlic, paprika and olive oil, which are common ingredients for Iberian dry-cured loin, were not used to avoid interferences with sensory analysis. Loins were kept for 1 day at 4°C to allow the seasoning mixture to penetrate. After that, loins were stuffed into collagen casings and held for 30 days at 4°C at a relative humidity (RH) of 75-80%. Finally, loins were ripened for 70 additional days at 10-16°C and at 75-65% RH

IV.2.3 Fat extraction and fatty acid analysis of dry-cured loins

Intramuscular total lipids from dry-cured loins were extracted and quantified according to the method described by Bligh and Dyer (1959). Neutral lipids (NL), free fatty acids (FFA) and polar lipids (PL) fractions from IMF were separated using NH₂-aminopropyl minicolumns following the method described by Ruiz, Antequera, Andres, Petron &

Muriel (2004). Fatty acid methyl esters (FAMES) of NL from dry-cured loins were prepared by acidic-trans-esterification in the presence of sulphuric acid (5% sulphuric acid in methanol) (Sandler & Karo, 1992). FAMES of NL were analysed by gas chromatography using a Hewlett-Packard HP-5890A gas chromatograph, equipped with a flame ionisation detector (FID). Separation was carried out on a polyethylene glycol-TPA modified fused silica semicapillary column (30m long, 0.53mm id, 1µm film thickness) maintained at 225°C. Injector and detector temperatures were 230°C. Carrier gas was nitrogen at a flow rate of 1.8 mL min⁻¹. Individual FAME peaks were identified by comparing their retention times with those of standards (Sigma, St Louis). Results are expressed as proportion of selected fatty acids. Fatty acids profile of PL and FFA were not considered in this work, and they will be published elsewhere.

IV.2.4 Descriptive sensory test

42 out of 61 processed dry-cured loins (8 from IBxD-HOVE, DxIB-HOVE, IBxD-CON and IB-MON batches and 10 from IB-HOVE batch) were assessed by a trained panel of 12 members, using a quantitative-descriptive analysis method (QDA) (Ruiz, Ventanas, Cava, Timón & García, 1998) for 19 different attributes. Panellists were trained and had previously participated in sensory evaluation of dry-cured products. Members of the panel had more than 120 hours of training in preparation for descriptive analysis. Consistency of panellist was validated using the Rasch model (García, Ventanas, Antequera, Ruiz, Cava & Alvarez, 1996). Questions were specifically selected for Iberian dry-cured loin evaluation after revision of available literature (García et al., 1996; Ruiz et al., 1998; Muriel et al., 2004). The sensory traits, their definitions and extremes are summarized in Table 1. Questions were presented to assessors in the normal perception order, as follows: visual analysis, odour perception, lean texture and flavour.

Three different dry-cured loins were randomly selected out of the 42 dry-cured loins processed and evaluated in each daily session. A total of 14 sessions were carried out. Sample order was also randomised. Three thin slices (1.5-2 mm) of each loin were given to the assessors. Slices were obtained using a commercial slicing machine and immediately served on glass plates to the panellist. Both the slices and the plates were at room temperature (20-23 °C). A glass of water of about 200 mL at 12°C was provided to each assessor. All sessions were done in a six-booth sensory panel room at 22°C equipped with white fluorescent lighting. 19 traits concerning sensory characteristics of Iberian dry-cured loins (Table 1), grouped in appearance, odour, texture, taste and flavour were assessed by the panellist using a 10 cm unstructured line, ranging for “less” to “more”. FIZZ Network

(version 1.01: Biosystemes, France) program was used for the sessions and the recording data obtained.

The mean of all panellist scores for each attribute of each evaluated dry-cure loin was calculated to perform the statistical analysis.

IV.2.5. Statistics

Experimental data were compared by a one way Analysis of Variance using the GLM procedure of the SPSS statistical software (v.12.0). When a significant probability was detected ($p < 0.05$), comparisons between means were carried out using the Tukey's test. Pearson's correlation coefficients were also calculated using the CORRELATION procedure of SPSS (v.12.0). A Principal Component Analysis (PCA) of the sensory data was carried out using the Unscrambler software (CAMO, ASA, OSLO, Norway).

IV.3. RESULTS AND DISCUSSION

According to Ventanas et al. (2006), the proximate composition and fatty acid profile of the feeds given to pigs were clearly different. Briefly, grass showed the highest content of crude protein (21.75% dry matter (DM)), crude fibre (20.2% DM) and ash (13.47% DM), whereas acorns showed the highest content of Nitrogen-free extractives (80.73% DM) and the lowest of protein (8.05% DM). HOVE mixed diet presented higher levels of fat than the control diet (8.29 vs 3.55% DM), but similar to those found in acorns (7.18% DM).

Moreover, grass was characterised by a relative high proportion of polyunsaturated fatty acids (PUFA) (70.97%) and control diet had higher levels of saturated fatty acids (SFA) and PUFA (25.05% vs 11.06 % and 42.62% vs 21.62% respectively) and lower of MUFA (32.32% vs 67.32%), compared to the HOVE mixed diet. As intended, HOVE mixed diet and acorns presented a similar fatty acid profile, showing the highest content of MUFA (67.32% and 66.88% respectively) and a relative low content of PUFA (21.62 % and 21.04% respectively).

IMF content (%) of the studied dry cured loins is shown in Figure 1. This parameter was affected by crossbreed, since loins from pure Iberian pigs (IB-HOVE and IB-MON) showed significantly ($p < 0.05$) higher levels of IMF than loins from crossbred pigs (IBxD-HOVE, IBxD-CON and DxIB).

The proportion of oleic acid (C18:1, n-9) and the proportion of SFA, MUFA and PUFA in NL of dry-cured loins are shown in table 2. Only the fatty acid profile of NL is shown because the triacylglycerols are the major lipid family in muscle and have been related to

sensory traits (Ruiz & Lopez-Bote, 2002b). The complete fatty acid profile of NL, PL and FFA will be discussed elsewhere.

IV.3.1 Sensory analysis

Mean scores of appearance, odour, texture, taste and flavour traits are presented in table 3.

IV.3.1.1. Appearance traits

There were significant differences ($p < 0.05$) in brightness, marbling size and marbling shape between the studied batches. Loins from both IB batches (IB-MON and IB-HOVE) had significantly ($p < 0.05$) bigger fat veins than loins from crossbred pigs. IB-HOVE loins showed significantly higher scores for brightness, marbling size and marbling shape than dry-cured loins from crossbred pigs (DxIB-HOVE, IBxD-HOVE and IBxD-CON), while scores for these attributes were higher in IB-MON than in those from IBxD and DxIB batches, but not to a significant extent. Moreover, IB loins tended to show a more intense marbling than loins from crossbred pigs, but the differences were not statistically significant. These results reveal an influence of pure Iberian breed on these sensory traits, which could be related to the fact that dry cured loins from IB pigs showed the highest IMF content (Figure 1). Iberian breed pig is a fast maturing and anabolic breed, with a high tendency to accumulate fat (Lopez-Bote, 1998), whereas the crossbreeding of Iberian pigs with Duroc-Jersey and other commercial breeds increases the lean content of the carcass, and concomitantly decreases the IMF content (Dobao, Rodriganez & Silio, 1986). Though some authors have reported a lack of effect of crossbreeding of Iberian x Duroc breed on IMF content *biceps femoris* (Tejeda, Gandemer, Antequera, Viau & García, 2002) others observed a tendency of muscles from pure Iberian pigs to reach higher percentages of IMF than those from Iberian x Duroc pigs (Andres et al., 2001).

The positive influence of IMF content on brightness and marbling attributes have been previously reported in Iberian dry-cured meat products (Muriel et al., 2004, Ruiz, Ventanas, Cava, Andrés & García, 2000). Moreover, these sensory traits seem to have an important and positive role in consumer preference (Ruiz et al., 2002a). A close relationship has been described between the melting point of fatty acids and the presence of melted lipids on the lean of dry-cured products, contributing to their bright appearance (Cava et al., 2000; Ruiz et al., 2000). Flores, Biron, Izquierdo and Nieto (1988) reported that the melting point of fat from Iberian pigs shows a higher correlation with oleic acid than with any PUFA fatty acids such as linoleic acid and thus, the oleic acid positively influences the oiliness and the brightness of Iberian-dry-cured hams (Ruiz et al., 2000). However, in the present work, neither the percentage of oleic acid nor the proportion of

total SFA, MUFA from NL of dry-cured loins showed significant differences between studied batches and thus, differences found for brightness did not seem to be related to differences in fatty acid composition of NL and/or in the proportion of oleic acid in this lipid fraction (Table 1). In a previous research, Ventanas, Gázquez, Muriel, Petró, Carrapiso & Tejada (2001) observed that adipocyte cells of hams from crossbred pigs (Iberian x Duroc) were bigger and more regular (polygonal), while those of Iberian pure hams were smaller, did not show their original shape and contained rest of membranes within. Moreover, connective tissue was weaker in Iberian dry-cured hams from pure Iberian pigs than in those from crossbred pigs (Iberian x Duroc). These structural differences could lead to a more intense diffusion of fat from inside of the adipocytes to outside in dry-cured loins from pure Iberian pigs, increasing the fat spreading on the lean surface and therefore the brightness perception.

Rearing system (MON, HOVE and CON) did not influence any of the appearance traits evaluated. In fact, loins from pure Iberian pigs (IB) reared in different systems (MON and HOVE) reached similar scores for appearance features. The same tendency was observed in loins from IBxD crossbred pigs fed on HOVE or CON mixed diets.

Results from this work suggest that crossbreeding shows a higher influence on appearance traits than rearing system. However, the use of Iberian pure or Duroc female as maternal line seemed to have an undetectable effect on appearance traits. Previous studies in Iberian dry-cured products have reported a close relationship between marbling and consumer preference (Ruiz et al., 2000). In accordance with these studies and with the results from the present work, it seems that Iberian pure breed would be more suitable than Iberian x Duroc crossbred pigs to produce dry-cured loins with high IMF content, which lead to get products with better sensory appearance.

IV.3.1.2. Odour traits

Neither odour intensity nor cured odour were influenced by genetic or rearing background. Accordingly, Carrapiso, Bonilla, & García (2003) did not find any effect of crossbreeding and rearing system on Iberian dry-cured ham odour features. In the present work, odour intensity values ranged from 4.42 to 4.75, which were lower than those reported by Muriel et al (2004) in Iberian dry-cured loins (mean scores from 5.39 to 6.00) using the same panellist. The presence of paprika and garlic in the loins of the previous study, probably enhanced odour features. These authors found that dry-cured loins with the highest IMF content also obtained the highest scores for odour intensity, which do not agree with the results obtained in the present study, in which the IMF content did not seem to influence

odour attributes. Odour intensity in Iberian dry-cured hams has been linked to rearing system (Cava et al., 2000) and processing time (Ruiz et al., 1998), hams from free-range reared pigs and ripening for a long processing time showing the highest scores. The increased levels of oleic acid content in dry-cured hams from Iberian pigs reared in “montanera” system leads to the generation of certain oleic acid-derived volatile aldehydes such as octanal and nonanal characterised by pleasant flavour notes. In addition, the higher the oleic acid content, the lower the amount of volatiles from PUFA oxidation, which are characterised by rancid notes (Ventanas et al., 2005). The lack of differences in the fatty acid profile and more specifically in the proportion of oleic acid, between the evaluated dry-cured loins could explain the absence of differences in odour attributes. In addition, the shorter ripening process (80 days vs more than 20-24 months) and the lower temperatures during the dry-cured loin processing compared to that of dry-cured hams, would probably contribute to a more limited development of chemical reactions involved in flavour compounds generation, avoiding that panellist could detect differences in odour attributes between the evaluated dry-cured loins.

IV.3.1.3 Texture traits

Significant differences ($p < 0.05$) were obtained for dryness, fibrousness and juiciness between all studied batches. Dry-cured loins from Iberian pure pigs (IB-HOVE and IB-MON) had lower scores in dryness and fibrousness traits compare to those from crossbred pigs (IBxD-HOVE, DxIB-HOVE and IBxD-CON), although scores for IB-HOVE loins were lower but not to a significant extent. Both batches from Iberian pure pigs (IB-MON and IB-HOVE) were significantly ($p < 0.05$) juicier than those from crossbred pigs. These results could be partly ascribed to the higher IMF content of loins from IB batches (Figure 1). In fact, they agree with previous studies carried out in Iberian dry-cured hams in which a close relationship between IMF content and texture attributes such as juiciness, hardness, dryness and fibrousness has been described (Cava et al., 2000; Ruiz et al., 2000; Jurado, Carrapiso, Timon & García, 2002). Moreover, significant correlations were obtained between IMF (%) and dryness ($R^2 = -0.52$; $p < 0.01$), fibrousness ($R^2 = -0.51$; $p < 0.01$) and juiciness ($R^2 = 0.65$; $p < 0.01$). As discussed for appearance traits, it seems that the use of Iberian pure breed pigs for the production of dry-cured loins improve sensory attributes related to texture traits, particularly juiciness. In addition, textural attributes were not influenced by the breed (Iberian pure of Duroc breed) of the maternal line used in the crossbreeding (IBxD and DxIB).

IV.3.1.4. Flavour traits

Among flavour traits, only saltiness and rancid flavour showed significant ($p < 0.05$) differences between batches. Unexpectedly, dry-cured loins from IB-MON pigs, which showed the highest IMF content, reached the highest scores for saltiness (4.76). The higher the IMF content, the lower the diffusion rate of sodium chloride through the piece, due to the lower diffusion coefficient of salt in the fat than in the lean tissue (Arnau et al., 1997). Therefore, loins with higher IMF content (IB-MON and IB-HOVE) were expected to show lower scores for saltiness, considering that all loins were salted together in a vacuum tumbling machine. However, there were differences in the initial weight of the loins before starting the dry-cured loin processing, probably due to the fact that the samples (half caudal part of *l. dorsi* muscles) were taken from the carcass in different sampling days. Loins from IB-MON batches showed lower weights (0.59 ± 0.06 kg) than IB-HOVE loins (0.78 ± 0.06 kg) and than those from crossbred batches: IBxD-CON (1.08 ± 0.23 kg), IBxD-HOVE (1.00 ± 0.13 kg) and DxIB-HOVE (1.12 ± 0.13 kg). The smaller the loin is, the higher the surface to volume ratio shows. Thus, considering the salting time was the same for all loins, those from IB-MON batch (which were the smallest) probably took a proportionally higher amount of sodium chloride, which could have led to a higher content of salt. This fact could explain the higher scores for saltiness reached in IB-MON dry-cured loins.

Rancid flavour was significantly different between the studied batches, with the highest score being for IBxD-HOVE loins (2.27) and the lowest for IB-HOVE loins (1.49).

Values for rancid flavour found in this work were higher than those previously reported by Muriel et al. (2004) in Iberian-dry cured loins, using the same sensory panel. These authors included, during the manufacture of loins, garlic and paprika as ingredients. These species show a powerful antioxidant activity (Aguizerrezabal., Mateo, Dominguez, & Zumalacarregui, 2000), which could have decreased lipid oxidation and hence the rancid flavour. In addition, certain volatile compounds from these spices, such as limonene and alpha-pinene from paprika and diallyldisulphide from garlic, which show strong aromatic notes (Muriel et al, 2004), could have hidden the rancid flavour perception in the previous study.

IV.3.2. Principal Component Analysis

A Principal Component Analysis was performed in order to evaluate the relationship among variables considered in this work (Figure 2). 45% of the variance was explained by

the first two principal components, 25% by the first principal (PC1) component and 20% by the second (PC2).

The loading plot for PC1 showed that %IMF, marbling features (marbling, marbling size and marbling shape), juiciness and brightness, showed positive loadings while hardness, dryness and fibrousness had negative loadings. The loading plot also showed a positive correlation between IMF content and marbling, marbling shape, juiciness and brightness, which agreed with positive and significant correlation coefficients found between these variables ($R^2= 0.49$, $p< 0.01$; $R^2= 0.44$, $p< 0.01$; $R^2= 0.65$, $p>0.01$; $R^2= 0.34$, $p<0.05$ respectively). However, hardness, dryness and fibrousness were negatively correlated with IMF content and accordingly, negative and significant correlation coefficients were found between marbling and hardness ($R^2= -0.43$, $p<0.01$), marbling and dryness ($R^2= -0.51$, $p<0.01$) and marbling and fibrousness ($R^2= -0.58$, $p<0.01$).

In the PC2, cured and odour intensity were located in the positive square, while rancid flavour and bitterness had negative loadings. The high correlation between cured and intensity odour attributes found in the PCA was also observed with a positive and significant correlation coefficient ($R^2= 0.721$, $p<0.01$).

The results from the PCA score plot showed the same pattern as the analysis of variance (Figure 2). Loins from IB-MON and IB-HOVE batches, which had the highest IMF content and reached the highest marbling scores, were located in the positive area of the PC1, in which IMF content, marbling intensity, marbling size, marbling shape and juiciness showed the highest loadings. Loins from crossbred pigs (IBxD-CON, IBxD-HOVE and DxIB-HOVE batches) were located in the negative area of PC1 in which dryness, hardness and fibrousness traits had the highest loadings. Therefore, loins from pure Iberian pigs (MON and HOVE batches) were located near to sensory attributes related to marbling and juiciness and far to those related with texture features such as dryness, hardness and fibrousness. Therefore, marbling attributes and juiciness, both of them related to IMF content, appears to adequately characterise dry-cured loins from Iberian pure breed pigs.

IV.4. CONCLUSIONS

The effect of crossbreeding on sensory characteristics of dry-cured loins was greater than that of rearing system. Appearance and texture features showed large differences between the different studied batches, while odour and flavour traits only had slight variations. Using pure Iberian or Duroc female as maternal line in crossbred Iberian x Duroc pigs

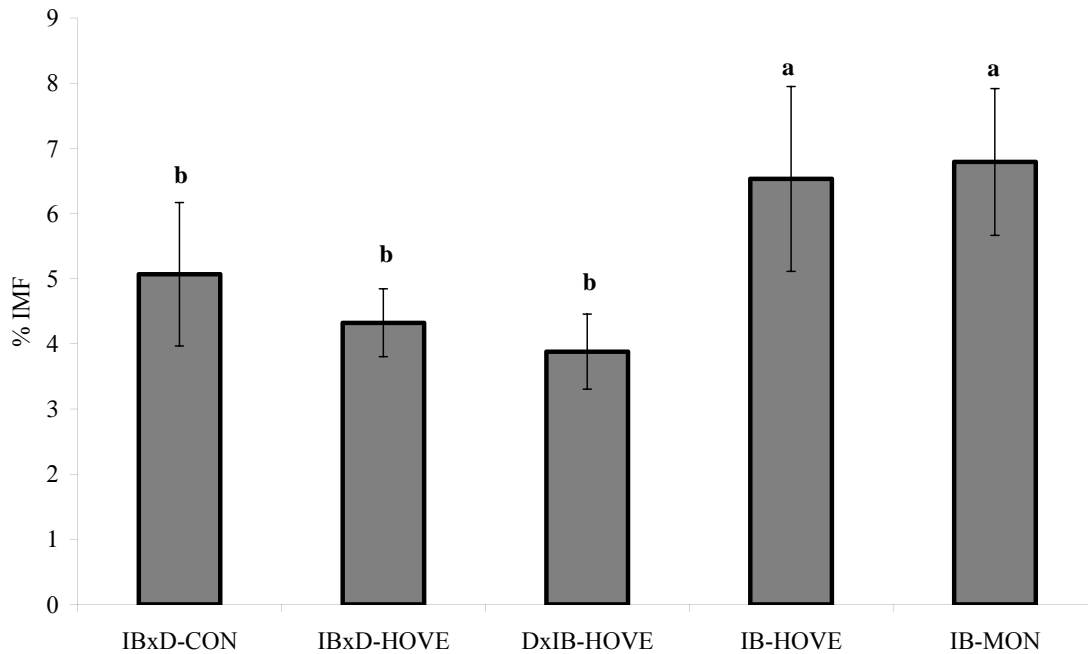
(50%) did not show any influence on sensory features of the studied dry-cured loins. Finally, IMF showed positive correlations with marbling features and juiciness and negative with dryness, hardness and fibrousness.

IV.5. REFERENCES

- Aguizerrezabal, M.M., Mateo J., Dominguez, M.C. & Zumalacarregui, J.M. (2000). The effect of paprika, garlic and salt on rancidity in dry sausages. *Meat Science*, 54, 77-81.
- Andrés, A.I., Cava, R., Mayoral, A. I., Tejada, J.F., Morcuende, D. & Ruiz, J. (2001). Oxidative stability and fatty acid composition of pig muscles as affected by rearing system, crossbreeding and metabolic type of muscle. *Meat Science*, 59, 39-47.
- Arnau, J., Guerrero, L. and Sarraga C. (1997). Effects of temperature during the last month of ageing and of salting time on dry-cured ham aged for six-months. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74, 193-198.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
- Boletín Oficial del Estado. (2001). Real Decreto 1083/2001, de 5 de Octubre, por el que se aprueba la norma de calidad para el jamón Ibérico, paleta ibérica y caña de lomo Ibérico elaborados en España. *B.O.E.*, 247, October 15, 37830-37833.
- Carrapiso, A.I., Bonilla, F. & García, C. (2003). Effect of crossbreeding and rearing system on sensory characteristics of Iberian ham. *Meat Science*, 65, 623-629.
- Daza, A., Rey, A. I., Ruiz, J., & Lopez-Bote, C. (2005). Effects of feeding in free-range conditions or in confinement with different dietary MUFA/PUFA ratios and α -tocopheryl acetate, on antioxidants accumulation and oxidative stability in Iberian pigs. *Meat Science*, 69, 151-163.
- Dobao, M. T., Rodriganez, J., & Silio, L. (1986). Heritability of a canalized trait-teat number in Iberian pigs. *Genetic Selection Evolution*, 18, 173-186.
- Cava, R., Ventanas, J., Ruiz, J., Andrés, A.I. & Antequera, T. (2000). Sensory characteristics of Iberian ham: Influence of rearing system and muscle location. *Food Science and Technology International*, 6(3), 235-242.
- Flores, J., Biron, C., Izquierdo, L. and Nieto, P. (1988). Characterization of green hams from Iberian pigs by fast analysis of subcutaneous fat. *Meat Science*, 23, 253-262.
- García, C., Ventanas, J., Antequera, T., Ruiz, J., Cava, R. & Alvarez P. (1996). Measuring sensorial quality of Iberian ham by Rasch model. *Journal of Food Quality*, 19, 397-410.
- Isabel, B., Lopez-Bote, C.J., de L Hoz, L., Timón, M., García, C. & Ruiz, J. (2003). Effects of feeding elevated concentrations of monounsaturated fatty acids and vitamin E to swine on characteristics of dry-cured hams. *Meat Science*, 64, 475-482.
- Jurado, A., Carrapiso, A.I., Timon, M.L. & García, C. (2003). Efecto de las líneas de cerdo Ibérico en las características sensoriales del jamón madurado. In Proceedings of 2nd *World Congress of Ham Science, Technology and Marketing*. Caceres, Spain.
- Lopez-Bote, C. J. (1998). Sustained utilization of the Iberian Pig Breed. *Meat science*, 49 (1), 17-27.

- Muriel, E., Ruiz, J., Petró, M.J., Andrés, A. & Antequera, T. (2003). Influencia del sistema de alimentación sobre parámetros físico-químicos y sensoriales del lomo curado de cerdo Ibérico. *Eurocarne*, 121, November, 75-89.
- Muriel, E., Ruiz, J., Martín, L., Petron, M.J. & Antequera, T. (2004). Physico-chemical and sensory characteristics of dry-cured loin from different Iberian pig lines. *Food Science and Technology International*, 10(2), 117-123.
- Rey, A. I., Isabel, B., Cava, R., & Lopez-Bote, C. J. (1998). Dietary acorns provide a source of gamma-tocopherol to pigs raised extensively. *Canadian Journal of Animal Science*, 78, 441-443.
- Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Timon, M.L. & García C. (1998) Sensory characteristics of Iberian ham: influence of processing time and slice location. *Food Research International*, 31(1), 53-58.
- Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Andrés, A. & García, C. (2000). Texture and appearance of dry-cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International*, 33, 91-95.
- Ruiz, J. & López-Bote, C.J. (2002b). Improvement of dry-cured ham quality by lipid modification through dietary means. In Toldrá, F, Research Advances in the Quality of Meat and Meat Products (pp. 255-271), Trivandrum, Kerala, India: Research Singpost.
- Ruiz, J., Antequera, T., Andres, A.I, Petron, M.J., & Muriel E. (2004) Improvement of a solid phase extraction method for analysis of triacylglycerols in muscle foods. *Analytica Chimica Acta*, 520, 201-205.
- Ruiz, J., García, C., Muriel, E., Andres, A.I. & Ventanas, J. (2002a). Influence of sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science*, 61, 347-354.
- Sandler, S. R., & Karo, W. (1992). Source book of advances organic laboratory preparations. Academic Press, San Diego.
- Tejeda, J.F., Gandemer, G., Antequera, T., Viau, M. & García, C. (2002). Lipid traits of muscles as related to genotype and fattening diet in Iberian pigs: total intramuscular lipids and tryacylglycerols. *Meat Science*, 60, 357-363.
- Ventanas, J., Gázquez, A., Muriel, E., Petró, M.J., Carrapiso, A.I. & Tejeda, J.F. (2001) La grasa intramuscular y la calidad del Jamón. In *Proceedings of 1st World Congress of Ham Science, Technology and Marketing*, (pp. 45-51) Córdoba, Spain.
- Ventanas, S., Estevez, M., Tejeda, J.F. & Ruiz, J. (article in press). Protein and lipid oxidation in Longissimus dorsi nad dry-cured loin from Iberian pigs affected by crossbreeding and diet. *Meat Science*.
- Ventanas, S., Ventanas, J., Ruiz, J. & Estévez, M. (2005). Iberian pigs for the development of high-quality cured products. In *Recent Research in Development in Agricultural and Food Chemistry*. (pp. 27-53), Trivandrum, Kerala, India: Research Singpost.

Figure 1. Intramuscular fat content (%) of dry-cured loins from Iberian pure pigs reared indoors fed on HOVE mixed diet (IB-HOVE), reared outdoors fed on acorns and grass (IB-MON) and loins from crossbred pigs reared indoors fed on HOVE mixed diet (IBxD-HOVE and DxIB-HOVE) and fed on control concentrates (IBxD-CON).



Bars with different letter show significant differences ($P < 0.05$)

Figure 2. Principal Component Analysis (PCA) of studied variables: (a) sensory attributes and IMF loading plot, (b) score plot for dry-cured loins from pigs with different genotype and rearing backgrounds.

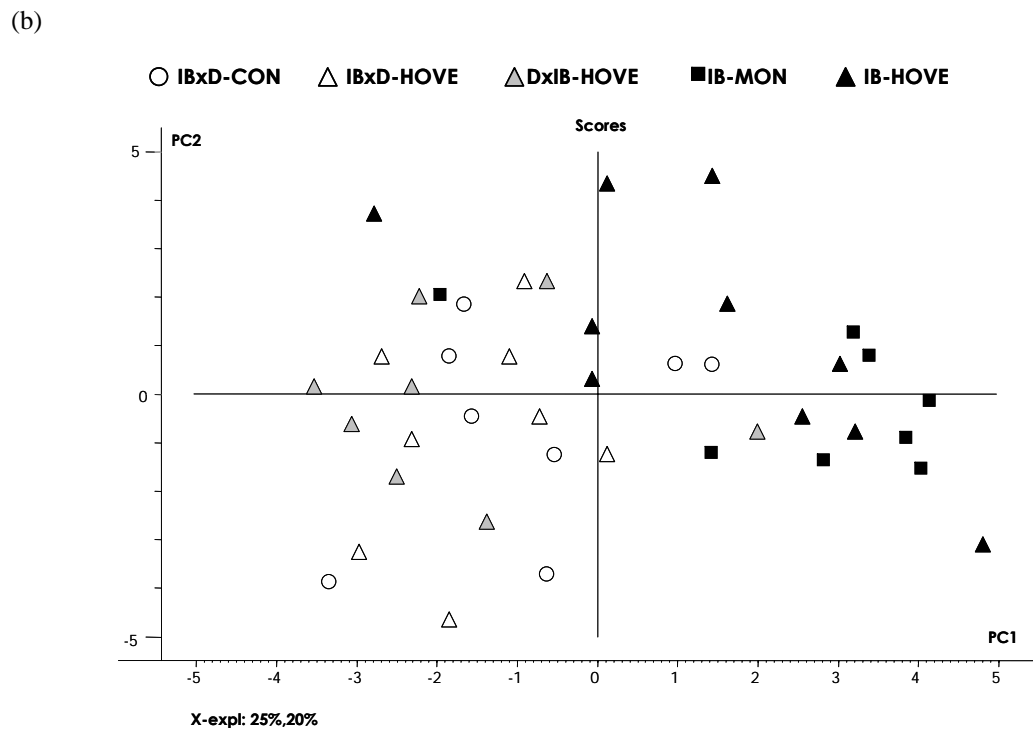
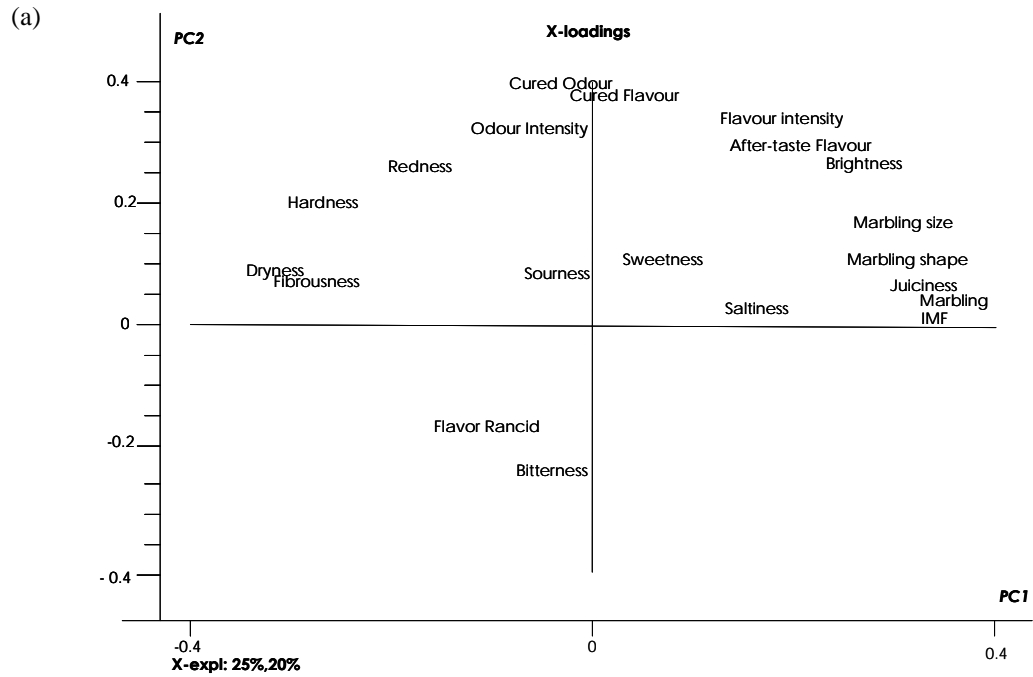


Table 1. Attributes, definitions and extremes of the sensory analysis of dry-cured loins.

Sensory traits	Definition
Appearance	
Redness	Intensity of red colour in the lean (pale pink to dark red)
Brightness	Intensity of brightness on the lean surface (dull to very bright)
Marbling	Level of visible intramuscular fat (very lean to intense marbled)
Marbling size	Size of the fat veins (very small to very big)
Marbling shape	Shape of the fat veins (lineal to irregular)
Odour	
Intensity	Level of overall odour before the sample is eaten (odourless to very intense odour)
Cured	Intensity of the typical odour from cured meat products before the sample is eaten (very low to very high)
Texture	
Hardness	Effort required to bite through lean and to convert the sample to a swallowable state (very tender to very firm)
Dryness	Amount of juices present in the mouth in the first chews (very wet to very dry)
Fibrousness	Extent to which fibres-strands are perceived on chewing (not to very fibrous)
Juiciness	Impression of lubricated food during chewing (not to very juicy)
Flavour	
Saltiness	Level of salt taste (not to very salty)
Sweetness	Level of sweet taste (not to very sweet)
Bitterness	Level of bitter taste not to very bitter)
Sourness	Level of source taste (not to very sour)
Flavour intensity	Level of overall flavour (flavourless to very intense flavour)
Cured flavour	Intensity of the typical flavour from cured meat products (very low to very high)
Rancid flavour	Intensity of the rancid flavour (very low to very high)
After-taste flavour	Intensity and duration of the flavour after the sample is swallowed (very low to very high)

Table 2. Proportion of oleic acid (C18:1 n-9) and fatty acid profile (sum of total proportion of SFA, MUFA and PUFA) of NL from dry-cured loins. Values are means \pm standard deviation.

	IBxD-CON	IBxD-HOVE	DxIB-HOVE	IB-HOVE	IB-MON	<i>P</i> ¹
C18:1 (n-9)	52.24 \pm 2.18	53.31 \pm 0.56	52.18 \pm 1.46	52.75 \pm 2.88	51.91 \pm 1.80	0.451
Σ SFA	39.39 \pm 2.48	38.14 \pm 1.10	39.50 \pm 1.89	38.60 \pm 3.02	38.72 \pm 1.51	0.492
Σ MUFA	56.89 \pm 2.45	57.47 \pm 0.60	56.61 \pm 1.50	57.21 \pm 2.83	56.60 \pm 1.53	0.779
Σ PUFA	3.72 ^b \pm 0.53	4.39 ^{ab} \pm 0.65	3.89 ^b \pm 0.63	4.19 ^{ab} \pm 0.63	4.68 ^a \pm 0.64	0.002

¹ P: effect was considered significant at P<0.05.

Means with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.05)

Table 3. Sensory profiles (mean values \pm standard deviation) of dry-cured loins from Iberian pure breed pigs (IB) and crossbred pigs (IBxD and DxIB), reared extensively fed on grass and acorns (MON) or intensively fed on enriched-mixed diets with sunflower high oleic acid and supplemented with α -tocopherol acetate (200 mg kg⁻¹) (HOVE).

	IBxD-CON	IBxD-HOVE	DxIB-HOVE	IB-HOVE	IB-MON	<i>P</i> ¹
Appearance						
Redness	5.68 \pm 0.41	5.44 \pm 0.86	5.82 \pm 0.59	5.77 \pm 0.81	5.13 \pm 0.86	0.301
Brightness	4.40 ^c \pm 0.58	4.49 ^{bc} \pm 0.54	4.50 ^{bc} \pm 0.80	5.66 ^a \pm 0.83	5.36 ^{ab} \pm 0.58	0.000
Marbling	5.46 \pm 1.06	5.35 \pm 1	5.06 \pm 1.44	6.31 \pm 0.85	6.27 \pm 0.77	0.057
Marbling size	3.42 ^b \pm 0.48	3.10 ^b \pm 0.51	3.12 ^b \pm 0.86	4.44 ^a \pm 0.79	4.62 ^a \pm 0.79	0.000
Marbling shape	4.20 ^d \pm 0.61	4.53 ^{bcd} \pm 1.04	4.33 ^{cd} \pm 0.88	5.50 ^a \pm 0.78	5.29 ^{bc} \pm 0.71	0.004
Odour						
Intensity	4.59 \pm 0.38	4.49 \pm 0.41	4.75 \pm 0.42	4.63 \pm 0.52	4.42 \pm 0.31	0.548
Cured	4.09 \pm 0.42	4.07 \pm 0.44	4.14 \pm 0.46	4.28 \pm 0.51	4.07 \pm 0.38	0.824
Texture						
Hardness	5.63 \pm 0.68	5.96 \pm 0.36	5.97 \pm 0.75	5.61 \pm 1.39	4.64 \pm 1.04	0.055
Dryness	5.26 ^a \pm 0.66	5.68 ^a \pm 0.43	5.48 ^a \pm 0.86	4.76 ^{ab} \pm 1.03	4.07 ^b \pm 0.80	0.002
Fibrousness	4.86 ^a \pm 0.44	5.10 ^a \pm 0.34	5.15 ^a \pm 0.30	4.54 ^{ab} \pm 0.71	4.03 ^b \pm 0.55	0.000
Juiciness	4.14 ^b \pm 0.82	4.09 ^b \pm 0.52	4.09 ^b \pm 0.64	5.07 ^a \pm 0.71	5.41 ^a \pm 0.63	0.000
Flavor						
Saltiness	4.21 ^b \pm 0.16	4.12 ^b \pm 0.39	4.11 ^b \pm 0.42	4.07 ^b \pm 0.39	4.76 ^a \pm 0.52	0.006
Sweetness	1.82 \pm 0.20	1.79 \pm 0.18	1.97 \pm 0.26	2.00 \pm 0.26	1.89 \pm 0.40	0.422
Bitterness	0.85 \pm 0.31	0.79 \pm 0.22	0.74 \pm 0.20	0.70 \pm 0.07	0.81 \pm 0.19	0.568
Sourness	1.86 \pm 0.46	1.79 \pm 0.32	1.79 \pm 0.17	1.55 \pm 0.37	1.82 \pm 0.33	0.330
Flavour intensity	5.37 \pm 0.40	5.31 \pm 0.49	5.44 \pm 0.36	5.59 \pm 0.38	5.74 \pm 0.39	0.232
Cured flavour	4.37 \pm 0.37	4.38 \pm 0.70	4.49 \pm 0.46	4.74 \pm 0.56	4.30 \pm 0.34	0.381
Rancid flavour	1.83 ^{ab} \pm 0.34	2.27 ^a \pm 0.59	1.78 ^{ab} \pm 0.57	1.49 ^b \pm 0.21	1.91 ^{ab} \pm 0.38	0.013
After-taste flavour	4.64 \pm 0.46	4.69 \pm 0.29	4.52 \pm 0.41	4.81 \pm 0.48	4.92 \pm 0.24	0.302

¹ P: effect was considered significant at P<0.05.

Means with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.05)

CAPÍTULO V

PREFERENCE AND JUICINESS OF IBERIAN DRY- CURED LOIN AS AFFECTED BY INTRAMUSCULAR FAT CONTENT, CROSSBREEDING AND REARING SYSTEM*

* Enviado para su publicación a Meat Science

Abstract

Preference ranking test for juiciness and overall liking of dry cured loins from Iberian pigs with different genetic background (pure Iberian or crossbred Iberian x Duroc pigs), reared under different productive systems (outdoors on acorns and grass or indoors with mixed diets) and with different intramuscular fat (IMF) content, were conducted. IMF showed a positive influence on preference for juiciness and liking in subjects over 25 years, while younger consumers showed a similar trend for juiciness but not for preference. Loins from pure Iberian pigs showed significantly better ranking for juiciness and overall liking than those from crossbred pigs, even when the IMF content was similar. Dry cured loins from pigs reared outdoors and fed on acorns and pasture were significantly better ranked than those from animals fed indoors on concentrates, despite used mixed diets were enriched in monounsaturated fatty acids and vitamin E in order to obtain meat with similar features to that of pigs reared outdoors, and despite the IMF content was very similar. In conclusion, dry cured loins with high IMF content, from pure Iberian pigs and reared outdoors on acorns and grass attain the highest consumer preference.

Keywords: dry-cured loin; preference; juiciness; IMF content; crossbreeding; rearing system.

V.1. INTRODUCTION

It is well known that intramuscular fat (IMF) plays a decisive role on the development of dry-cured products sensory features (Ruiz, Ventanas, Cava, Andrés & García, 2000; Ventanas, Ventanas, Ruiz & Estévez, 2005). Increasing IMF levels are generally considered as a mean to enhance the eating quality of both fresh pork and dry-cured products such as hams and loins (Verbeke, Van Oeckel, Warnants, Viaene & Boucque, 1999). Particularly, dry-cured products traditionally obtained from Iberian pigs are one of the most valuable processed meat products because of their unique sensory traits which are based, among others factors, in the presence of high levels of IMF (Ruiz, García, Muriel, Andres & Ventanas, 2002; Ventanas et al., 2005). In this sense, marbling, which has been directly linked to IMF content in Iberian dry-cured products (Ruiz et al., 2000; Muriel, Ruiz, Martin, Petron & Antequera, 2004), is considered as a quality index by consumers. At the same time, increasing interest and demand exists for low-fat and reduced-fat meat products in response to health concerns of consumers (Resurreccion, 2003). In this sense, Fernandez, Monin, Talmant, Mourot & Lebret (1999) reported that increased levels of IMF

had detrimental effects on fresh pork acceptability, due to the negative influence of the visible fat. However, no studies aimed to evaluate whether these current eating habits affect the consumer preference for Iberian dry-cured products has been carried out.

Consumers are concerned of both the sensory meat quality of food items and the production systems for derived meat products, including dry-cured ones (Jönsall et al., 2002; Ruiz et al., 2002). In fact, in the case of the Iberian dry-cured products, those from pure Iberian pigs reared outdoors and exclusively fed on grass and acorns (rich in oleic acid and natural antioxidants such as α -tocopherol) in the so-called “Montanera” system (Lopez-Bote, 1998), are the most appreciated by consumers due to the association of the benefits from this outdoors pig production system with the high sensory quality of these traditional meat products (Ventanas et al., 2005). However, due to the increasing sales of this type of dry-cured products, numerous Iberian pigs are also reared indoors and fed on mixed diets, since the natural feed resources for outdoor rearing are available only for a limited number of pigs and during 3-4 months a year. Moreover, Iberian pig breed is commonly crossbred with animals from the Duroc breed to improve some productive characteristics, minimizing the reduction in IMF content that could be occasioned if other pig breeds were used (Lopez-Bote, 1998). These two modifications of the traditional rearing system lead to Iberian dry-cured products which attain lower prices in the trade and are considered by consumers of lower sensory quality. However, no studies have confirmed this belief.

In order to keep a high standard of meat and meat products quality, the use of vitamin E and monounsaturated fatty acids (MUFA) enriched diets for Iberian pig feeding has been pointed out as a successful strategy for obtaining a similar muscle oxidative status and fatty acid profile to that of pigs fed on acorns (Muriel et al., 2004; Daza, Rey, Ruiz & Lopez-Bote, 2005; Ventanas, Estévez, Tejeda & Ruiz, 2006). However, the real influence of such productive means on consumer acceptability has not been elucidated.

Thus, the objective of the present work was to investigate whether consumer preference for dry-cured loins was affected by IMF content, crossbreeding and rearing systems using ranking test evaluation with untrained panellist as potential consumers. The effect of these factors on the juiciness perceived by consumers in dry-cured loins was also studied.

V.2. MATERIALS AND METHODS

V.2.1. Animals and dry cured loins processing

This study was carried out with three different batches of dry-cured loins (I) dry-cured loins from pure Iberian breed pigs reared outdoors during the fattening period (60 days prior to slaughter), exclusively fed on available acorn and grass according to the traditional ‘montanera’ feeding system (IB-MON), (II) dry-cured loins from pure Iberian breed pigs reared indoors for the same period of time and fed on concentrates containing high oleic sunflower oil (57.5 g kg⁻¹ of diet) and supplemented with 250 mg kg⁻¹ of α -tocopherol acetate (IB-HOVE) and (III) dry-cured loins from Iberian x Duroc (50%) crossbred pigs reared indoors and fed on the same mixed diets as IB-HOVE pigs (IBxD-HOVE). Proximate composition and fatty acid profile of concentrates, acorn and grass were previously described by Ventanas et al. (2006). Animals were slaughtered by electrical stunning and exsanguination at a local slaughterhouse at a live weight of 165-175 kg.

Sampling was carried out within an hour of slaughter. *Longissimus dorsi* (LD) muscle was removed from the carcass and frozen until processing. Dry-cured loins were processed using the cranial half of the LD of all studied animals. Processing was carried out at a commercial plant as follows: after 48 hours of chilling at 4°C, loins were seasoned with a mixture of salt (2.5%), nitrites and sugar (0.7%) and water (1%) garlic, paprika and olive oil, which are common ingredients for Iberian dry-cured loin, were not used to avoid exogenous flavour notes interferences during consumer evaluation. Loins were kept for 4 day at 4°C to allow the seasoning mixture to penetrate. After that, loins were stuffed into collagen casings and held for 30 days at 4°C at 75-80% relative humidity (RH). Finally, loins were ripened for 60 additional days at 10-16°C at 75-65% RH. Once the ripening process finished, dry-cured loins were vacuum packaged to avoid an excessive dehydration of the product until consumer evaluation.

Intramuscular total lipids from dry-cured loins were extracted and quantified according to the method described by Bligh & Dyer (1959).

V.2.2 .Consumer evaluation

Dry cured loins were subjected to consumer sensory evaluation using a ranking test in order to evaluate the preference for overall liking and juiciness. Four sessions (one ranking test per session), two for experiment 1 and two for experiment 2, were performed. 48-70 untrained subjects (consumers) participated in each session, including university students, professors and staff recruited at the School of Veterinary Sciences (Extremadura University, Cáceres, Spain). Characteristics of the untrained panel are summarized in table

1. Evaluation sessions were conducted in a 50 m² room at constant temperature in the Department of Food Science between 12:00 and 15:00 p.m., in four different days (two consecutive days for experiment 1 and two weeks after these sessions, two consecutive days for experiment 2). In each session, three room-tempered slices of dry-cured loin identified with a code of three-digit numbers in a plastic plate were presented to consumers. No information about the samples was provided to the panellist, except that the loins were perfectly controlled and safe. The three dry-cured loin samples used in each ranking test were different and selected considering different criteria depending on the experiment performed (table 2). Two different loins with the same classification (for instance two loins classified as low IMF content) were used for obtaining each type of evaluated sample in order to avoid that individual features of loins interfered in the results. Mineral water at room temperature and unsalted toasted bread were available and subjects were required to consume them before tasting each sample in order to rinse their mouths between samples consumption. The subjects were instructed to taste the three slices and try to rank them by answering the two questions including in the questioner sheet. The first question was aimed to assess consumer preference: “Please, order the three samples from the least liked (scored as 3) to the most liked (scored as 1)”. The second one was directed to know their preference on juiciness: “Please, order the three samples from the less juicy (scored as 3) to the juiciest (scored as 1)”. Before tasting the samples, subjects were asked to specify their age (older or younger than 25 years) and their gender (male or female) in the evaluation sheet.

V.2.3.Experiment 1

The aim of this experiment was to investigate whether the IMF content influences the juiciness and the preference of consumers for dry-cured loins. For this purpose, each session within this experiment was performed using three samples with different IMF content but from the same batch: IBxD-HOVE for the first session and IB-MON for the second one, in order to guarantee that differences between samples of the same session were mostly due to their different IMF content (Table 2). Thus, dry-cured loins evaluated in these two sessions were classified according to their IMF content as low, medium or high. All loins included in the experiment 1 showed similar moisture and sodium chloride content.

V.2.4.Experiment 2

The aim of the second experiment was to study the influence of the IMF content but also that of the crossbreeding and the feeding system, on the preference of consumer and the

perceived juiciness in Iberian dry-cured loins. Thus, samples of dry-cured loins evaluated in the third and in the fourth sessions were classified according to their IMF content but also considering the crossbreed and the rearing system (Table 2). In the third session, all evaluated loins were from pigs reared in the same system (HOVE). 2 samples were from loins with similar IMF content but from different crossbreeding (crossbreed IBxD and pure IB), in order to evaluate the effect of crossbreeding. The third sample (sample 3) was also from the IB-HOVE batch, but showed a higher IMF content than the other two samples, in order to confirm whether preference of subjects and degree of juiciness was linked to the IMF content. Finally, in the fourth session, the IMF content was similar for all evaluated samples, but samples 1 and 2 differed in the crossbreeding (IBxD vs IB), while samples 2 and 3 differed in the rearing system (HOVE vs MON). The objective of this session was to study whether crossbreeding and rearing system influence consumer preference and perceived juiciness when the IMF content is similar.

V.2.5. Statistics

Data from each ranking test were analysed using the Friedman non-parametric statistic test, with a significant level of $p < 0.05$, in order to find out if consumers were able to discriminate between samples according to preference and juiciness. When differences were statistically significant, the Wilcoxon Mann-Whitney U test was applied in order to find differences among the studied samples. The correlation between data resulting from preference and juiciness was determined using Spearman's ranked-score correlation coefficient for non-parametric data. All these statistics analyses were performed using the SPSS program for Windows (version 12.0).

V.3. RESULTS AND DISCUSSION

V.3.1. Experiment 1: Preference and juiciness differences as influenced by IMF content

The results of the preference and juiciness ranking test for session 1 and 2 are shown in Table 3. In session 1, significant differences in ranking scores for both preference and juiciness ($p < 0.05$) were detected among the tasted samples with increasing amount of IMF content (low: 3.63% IMF, medium: 6.64% IMF and high: 11.96% IMF). Results from the ranking test with all consumers revealed that subjects significantly preferred low and high IMF content loins than loins with medium IMF content. However, obtained results were different depending on the considered age range. Thus, subjects younger than 25 years did not show significant differences in preference between low and high IMF loins, nor

between high and medium ones. In fact, only 35% of the subjects younger than 25 years old ranked the samples from high IMF as the most preferred. In contrast, subjects over 25 years old significantly preferred the high IMF content dry-cured loins (were the most preferred for 61% of consumers of this age range) than the low and the medium IMF ones. The age of subjects also affected the appreciation of juiciness in tasted samples, since subjects younger than 25 years ranked the low IMF content loins as the juiciest, while 73% of subjects older than 25 years found high IMF content loins as the juiciest, and thus, these samples showed significantly better ranking for juiciness than that of medium and low IMF loins.

Therefore, in this session two opposite tendencies were observed mainly due to the age of consumers. Subjects under 25 years old did not seem to have a clear preference but they tend to prefer and to choose the low IMF content loins as the juiciest and most preferred. In contrast, subjects over 25 years old chose the samples from the high IMF content loin as the most preferred and the juiciest.

Similarly to session 1 but using a different batch, in session 2 three different dry cured loins from the IB-MON batch with increasing amount of IMF content (4.09, 6.27 and 8.87%) were evaluated. When all consumers were considered together, samples from medium IMF content loins were significantly preferred to those from the other two IMF levels. Contrarily, consumers younger than 25 years did not show significant differences ($\chi^2= 3.45$, $p=0.178$) in preference for loins with different IMF content. However, similarly to session 1, subjects older than 25 years showed a significant preference for samples with medium and high IMF content than for low IMF ones.

In session 2, results from the ranking test considering all consumers together regardless the age, revealed that subjects perfectly discriminated between samples and significantly ranked loins with the highest IMF content (high IMF content batch) as the juiciest (58% of the subjects ranked the high IMF samples as the juiciest). However, there were not significant differences in the juiciness scores between medium and high IMF content loins given by subjects younger than 25 years old.

Considering the results from experiment 1, it seems that IMF content influences consumer preference and perceived juiciness. Overall, the higher the IMF content of the evaluated dry-cured loins, the better the scores for preference and juiciness given by the consumers. These results agree with those reported by Cilla et al. (2006) in which dry-cured hams with the highest IMF content showed the highest overall consumer acceptability. IMF plays a decisive role in most dry-cured products features directly linked to their sensory

characteristics, such as marbling and juiciness (Ruiz et al., 2000; 2002). The influence of IMF content were more evident in the juiciness than in the preference, since more than 50% of all consumers in session 1 and 2 ranked the samples from high IMF content loins as the juiciest. This was more obvious in the ranking by subjects older than 25 years.

There was a clearly different preference and perception of juiciness for the evaluated age ranges. Iberian dry cured loins are rated as high-quality products, reaching high prices in the market (up to 60€/Kg and even more when sold sliced). Consumers under 25 years old, most of them students, usually do not have a high purchasing power, and thus, they can be considered as occasional consumers of this type of products. As for other delicatessen, it seems that a wide and constant experience in the consumption of these meat products is required to have a clear preference and to be able for discriminating among different qualities. In addition, the higher level of visible fat in high IMF loins could have negatively influence preference in subjects younger than 25 years. Though Spanish consumers demand an intense marbling in this type of dry-cured products, nowadays young people are concerned about fat content of foodstuffs due to health implications (Resurrecion, 2003), and this leads to negatively rank products with noticeable high fat levels. This could have negatively influenced preference of subjects younger than 25 years, even before tasted the samples. In this sense, Cilla et al (2006) reported that the overall acceptability of dry-cured hams of a specific group of consumers was negatively affected by the fat content. Moreover, Fernandez et al. (1999) reported a negative influence of IMF level on the willingness to eat and to purchase pork before tasting, due to the negative influence of the visible fat. These authors also described that after tasting this negative effect disappear. Accordingly to these authors, probably the visible fat of the evaluated samples influence the subjects decision after tasting, being more evident this negative effect on preference ranking than in juiciness. Juiciness is one of the most important attributes comprised in the sensory experience during meat consumption, while appearance features, including visible fat or marbling, are decisive before consumption (Fortin, Robertson & Tong, 2005). In fact, dry-cured products juiciness is greatly influenced by IMF content, since their processing involves a strong dehydration leading to low final moisture content. In this situation, juiciness highly depends upon the stimulation of saliva secretion by IMF (Blumer, 1963). Such a decisive role of IMF content on juiciness could explain that differences in IMF content of the studied dry-cured loins have more clearly influenced the ranking of juiciness than that of preference.

V.3.2 Experiment 2: Preference and juiciness as affected by crossbreeding and rearing system

Results of preference and juiciness from ranking test in session 3 and 4 are shown in table 4. When all consumers were considered together, statistical analysis of ranking scores from session 3 using the non-parametric Friedman's test did not show significant differences in consumer preference between the three evaluated samples ($\chi^2=3.74$, $p=0.170$). Nevertheless, samples from high IMF content IB-HOVE loins (9.74% IMF) were the most preferred (40% of subjects chose these as the highest quality ones) followed by those of the IB-HOVE with lower IMF content, while those from IBxD-HOVE loins with lower IMF content were the least preferred ones. In fact, for subjects over 25 years this behaviour was almost significant ($P=0.057$). On the other hand, and following the same trend observed in experiment 1, consumers younger than 25 years did not show any clear tendency in preference.

Both the IMF content and the crossbreeding significantly influenced sample juiciness perceived by the untrained panellist ($P<0.001$). When data from all consumers were jointly analysed, samples from IB-HOVE loins with high IMF content showed significantly better ranked juiciness. Moreover, in loins with similar IMF content and from pigs reared under the same productive system, those from pure Iberian pigs (IB-HOVE) showed significantly better ranking for juiciness than those from crossbred pigs (IBxD-HOVE). The same ranking for juiciness was found for both groups of considered consumer age, although in that of subjects under 25 years differences were not significant. Therefore, consumers were able to discriminate in terms of juiciness between samples that only differed in their IMF content (IB-HOVE and IB-HOVE high) and also between samples with similar IMF content but that differed in their genetic background (IB-HOVE and IBxD-HOVE). Therefore, it seems that other factors apart from IMF content might influence juiciness in dry-cured products, such as fat distribution among muscle cells or intramuscular adipose tissue structure, which could explain differences in juiciness between samples from loins with the same IMF content. In fact, Ventanas et al. (2001) reported structural differences in the adipocytes and in the overall structure of the connective tissue in intramuscular adipose tissue between dry-cured hams from Iberian pure breed pigs and crossbred pigs (Iberian x Duroc). These structural differences could lead to a more intense diffusion of fat outside the adipocytes in dry-cured loins from pure Iberian pigs, enhancing the stimulation of saliva secretion during consumption.

In session 4, despite all the evaluated loins showed similar IMF content (5.83 %, 5.64 % and 5.63 %), panellist perceived significant differences for preference ($P < 0.018$) and for juiciness ($P < 0.0001$). Overall, consumers ranked loins from crossbred pigs fed indoors on concentrates (IBxD-HOVE) with the worst scores, both for preference and for juiciness. Loins from pure Iberian pigs (IB-HOVE and IB-MON) reached the best scores for preference and juiciness. Moreover, those from pigs reared outdoors and fed on acorns and grass showed significantly better juiciness than those from pigs fed on concentrates, despite these mixed diets contained supplemented level of MUFA and vitamin E. Accordingly to results in experiment 1, these behaviour for preference and juiciness were more evident in subjects over 25 years, while younger ones did not show significant differences for preference, but they did for juiciness.

These results support that crossbreeding (either pure Iberian pig or crossbred Iberian x Duroc), causes differences in consumer preference and perceived juiciness in dry-cured loins. On the other hand, rearing system (either MON or HOVE) showed a more marked influence on juiciness than on preference. Moreover, no differences in the fatty acid composition of IMF triglycerides between both types of loins were detected (unpublished data). Therefore, considering that both the IMF content and the fatty acid profile of triglycerides of these loin samples were very similar, it seems that other factors related to the flavour and particularly with the taste of loins could have improved the juiciness perception in IB-MON loins. Physical activity of outdoors reared pigs leads to an increase in the proportion of oxidative fibres and myoglobin content as a result of adaptive modifications to exercise (Andrés, Ruiz, Mayoral, Tejada & Cava 2000). Recently, Jurado (2005) reported that the concentration of certain not essential amino acids such as glutamic acid, which is related to a pleasant “umami” taste, was higher in Iberian dry-cured hams from pigs reared outdoors in “montanera” system. According to Aristoy & Toldra (1998), this could be linked to their higher proportion of oxidative fibres. In the present study, myoglobin content in dry-cured loins from IB-MON pig batch was significantly higher ($P < 0.0001$) than in loins from IB-HOVE pig batch (4.69 ± 1.29 ppm vs 3.46 ± 0.59 ppm). This is most likely due to a higher proportion of oxidative fibres, which in turn could have caused a higher content of amino acids related to “umami” taste in the evaluated IB-MON dry-cured loins than in IB-HOVE loins. If such an hypothesis is correct, the more intense taste of dry-cured loins from pigs reared outdoors in “montanera” caused by a higher glutamic acid content, could have contributed to improve the juiciness of these loins by increasing the stimulation of saliva secretion. Furthermore, physical activity of pigs during

the fattening period outdoors could influence the way in which IMF is seeped in between the muscle fibres, which could also influence the perceived juiciness by consumers. In fact, in a previous study (Ventanas et al., Submitted Meat Science) in which sensory descriptive evaluation using a trained panel was performed on dry-cured loins produced with the caudal half of the same LD muscle used for producing those of the present study, differences in marbling shape and size between dry cured loins from IB-MON batch and IB-HOVE batch were detected.

At any rate, the use of high MUFA and supplemented vitamin E mixed diet appears to be a good strategy for enhancing sensory quality of dry-cured loins from pig reared indoors, enabling the production of loins with a similar acceptability to those from pigs reared outdoors. Nevertheless, dry-cured loins from pure Iberian pigs reared outdoors seem to attain the highest acceptability and juiciness, confirming the actual market classification and beliefs.

V.3.3 Preference and Juiciness correlation.

Spearman's correlation coefficient between subjects' preference and juiciness attribute had a significant value ($p < 0.01$) of 0.492, which indicate that samples with the best scores for juiciness was also the most preferred by the panel, supporting the close link between juiciness attribute and preference previously described (Ruiz et al., 2002).

V.4. CONCLUSIONS

Iberian dry-cured loin consumer preference and perceived juiciness seems to be highly influenced by IMF content. Nevertheless, these two variables are strongly influenced by the age of consumers. In this sense, younger consumers do not perceive the presence of fat as a positive feature, probably due to both a lack of habit in tasting this expensive meat product, but also to a preference for low fat food products. Nevertheless, since target population for this type of products is mainly people older than 25 years, IMF should be considered as a main determinant of Iberian dry-cured loin quality and acceptability.

Crossbreeding and rearing systems influence both consumer preference and juiciness ranking. Though the use of HOVE type mixed diet seems to improve the sensory quality of dry-cured products from pigs reared indoors and fed on concentrates, this study supports that loins from pig reared outdoors in "montanera" are still preferred by consumers and are considered the juiciest loins. Taking into account all this information, the best strategy to achieve the highest sensory quality dry-cured loins for consumers appears to be the use of

loins with high IMF levels and from pure Iberian breed pigs reared outdoors in “montanera”.

V.5. REFERENCES

- Andrés, A.I., Ruiz, J., Mayoral, A.I., Tejeda, J.F. & Cava, R. (2000). Influence of rearing conditions and crossbreeding on muscle color in Iberian pigs. *Food Science and Technology International*, 6, 315-321.
- Aristoy., M.C. & Toldrá, F. (1998). Concentration of free amino acids and dipeptides in porcine skeletal muscles with different oxidative patterns. *Meat Science*, 50, 327-332.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Bioche. Phys.* **1959**, 37, 911-917.
- Blumer, T.N. (1963). Relationship of marbling to the palability of beef. *Journal of Animal Science*, 22, 771-776.
- Cilla, I., Altarriba, J., Guerrero, L., Gisbert, M., Martínez, L., Moreno, C., Beltrán, J. A., Guardia, M. D., Diestre, A., Arnau, J & Roncalés, P. (2006). Effect of different Duroc line sires on carcass composition, meat quality and dry-cured ham acceptability. *Meat Science*, 72, 252-260.
- Daza, A., Rey, A. I., Ruiz, J., & Lopez-Bote, C. (2005). Effects of feeding in free-range conditions or in confinement with different dietary MUFA/PUFA ratios and α -tocopheryl acetate, on antioxidants accumulation and oxidative stability in Iberian pigs. *Meat Science*, 69, 151-163.
- Fernandez, X., Monin, G., Talmant, A., Mourot, J. & Lebret, B. (1999). Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat-2 Consumer acceptability of m. longissimus lumborum. *Meat Science*, 53, 67-72.
- Fortin, A., Robertson, W.M. & Tong, A.K.W. (2005). The eating quality of Canadian pork and its relationship with intramuscular fat. *Meat Science*, 69, 297-305.
- Jonsäll, A., Johansson, L., Lundström, K., Anderson, K.H., Nilsen A., N., & Risvik, E. (2002). Effects of genotype and rearing system on sensory characteristics and preference for pork (M. Longissimus dorsi). *Food Quality and Preference*, 13, 73-80.
- Jurado, A. (2005). Evolución de los compuestos relacionados con el sabor y el aroma del jamón Ibérico de distintas calidades durante el procesado. Doctoral Thesis. Universidad de Extremadura, Spain.
- Lopez-Bote, C. J. (1998). Sustained utilization of the Iberian Pig Breed. *Meat science*, 49 (1), 17-27.
- Muriel, E., Ruiz, J., Martin, L., Petron, M.J. & Antequera, T. (2004a). Physico-chemical and sensory characteristics of dry-cured loin from different Iberian pig lines. *Food Science and Technology International*, 10(2), 117-123.
- Resurreccion A.,V.,A. (2003). Sensory aspects of consumer choices for meat and meat products. *Meat Science*, 66,11-20.
- Ruiz, J., García, C., Muriel, E., Andres, A.I. & Ventanas, J. (2002). Influence of sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science*, 61, 347-354.
- Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Andrés, A. & García, C. (2000). Texture and appearance of dry-cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International*, 33, 91-95.

- Ventanas, J., Gázquez, A., Muriel, E., Petró, M.J., Carrapiso, A.I. & Tejada, J.F. (2001) La grasa intramuscular y la calidad del Jamón. In Proceedings of 1st World Congress of Ham Science, Technology and Marketing, (pp. 45-51) Córdoba, Spain.
- Ventanas, S., Estevez, M., Tejada, J.F. & Ruiz, J. (2006). Protein and lipid oxidation in Longissimus dorsi nad dry-cured loin from Iberian pigs affected by crossbreeding and diet. *Meat Science*, 72, 647-655.
- Ventanas, S., Ventanas, J & Ruiz, J. (Submitted). Sensory characteristics of Iberian dry cured loin: influence of crossbreeding and rearing system.
- Ventanas, S., Ventanas, J., Ruiz, J. & Estévez, M. (2005). Iberian pigs for the development of high-quality cured products. In *Recent Research in Development in Agricultural and Food Chemistry*. (pp. 27-53), Trivandrum, Kerala, India: Research Singpost.
- Verbeke, W., Van Oeckel, M.J., Warnants, N., Viaene, J. & Boucque, Ch.V. (1999) Consumer perception, facts and possibilities to improve acceptability of health and sensory characteristics of pork. *Meat Science*, 53, 77-90.

Table 1. Composition of the population based on age and gender in each session.

	Under 25 years (%)	Over 25 years (%)	Male (%)	Female (%)	Total (N)
SESSION 1	53	47	44	56	70
SESSION 2	19	81	42	58	57
SESSION 3	49	51	40	60	70
SESSION 4	46	54	50	50	48

Table 2. IMF content, breed and feeding background of the evaluated dry-cured loins. Classification criterion used in each session is also specified.

Sample	¹ % IMF	n° session	² Breed	³ Feed	Classification
Experiment 1					
1	3.63	1	IB	HOVE	Low IMF
2	6.64	1	IB	HOVE	Medium IMF
3	11.96	1	IB	HOVE	High IMF
1	4.09	2	IB	MON	Low IMF
2	6.27	2	IB	MON	Medium IMF
3	8.87	2	IB	MON	High IMF
Experiment 2					
1	4.53	3	IBxD	HOVE	IBxD-HOVE
2	4.73	3	IB	HOVE	IB-HOVE
3	9.74	3	IB	HOVE	IB-HOVE high
1	5.83	4	IBxD	HOVE	IBxD-HOVE
2	5.64	4	IB	HOVE	IB-HOVE
3	5.63	4	IB	MON	IB-MON

¹ mean of % IMF content of the two used loins for obtaining each type of sample.

² breed: IB: Iberian pure breed pig; IBxD: crossbreeding Iberian x Duroc (50%)

³ feed: HOVE: pigs reared indoor fed on enriched diet with high oleic sunflower oil and supplemented with α -tocopherol acetate; MON: pigs reared outdoors (“montanera” system) fed on acorns and grass.

Table 3. Preference and juiciness scores after tasting the slices of dry cured loins (means \pm standard deviation) for experiment 1. Statistic results obtained after applying Friedman and Wilcoxon-Mann Whitney test are also shown.

EXPERIMENT 1	N	1% Low	Preference			1% ^a	p	Juiciness			p
			medium	high	high			low	medium	high	
session 1											
all consumers	70	47	1.87 ^a \pm 0.797	2.40 ^b \pm 0.730	1.73 ^a \pm 0.779	0.000	53	1.77 ^a \pm 0.663	2.51 ^b \pm 0.697	1.73 ^a \pm 0.850	0.000
under 25	37	35	1.70 ^a \pm 0.740	2.35 ^b \pm 0.789	1.95 ^{ab} \pm 0.815	0.019	35	1.62 ^a \pm 0.681	2.35 ^b \pm 0.753	2.05 ^b \pm 0.880	0.008
over 25	33	61	2.06 ^b \pm 0.827	2.45 ^b \pm 0.666	1.48 ^a \pm 0.667	0.000	73	1.94 ^b \pm 0.609	2.70 ^c \pm 0.585	1.36 ^a \pm 0.653	0.000
session 2											
all consumers	57	30	2.25 ^b \pm 0.763	1.68 ^a \pm 0.783	2.07 ^b \pm 0.821	0.009	58	2.40 ^c \pm 0.799	2.04 ^b \pm 0.680	1.60 ^a \pm 0.776	0.004
under 25	11	18	2.18 \pm 0.874	1.55 \pm 0.688	2.27 \pm 0.786	0.178	45	2.82 ^b \pm 0.405	1.55 ^a \pm 0.688	1.64 ^a \pm 0.674	0.033
over 25	46	33	2.26 ^b \pm 0.743	1.72 ^a \pm 0.807	2.02 ^a \pm 0.830	0.033	61	2.30 ^b \pm 0.840	2.15 ^b \pm 0.631	1.59 ^a \pm 0.805	0.001

1% of subjects that chosen the theoretical highest sensory quality dry cured loins sample (those with the highest IMF content) as the most preferred and the juiciest

^ap: Effect was considered significant at $p < 0.05$. Rating scores for preference: 1: most preferred, 2: most preferred in second place, 3: least preferred. Rating scores for juiciness: 1, the juiciest, 2: the juiciest in second place, 3: least juicy. Means scores in the same row with different superscript letters (a,b,c) are significantly different from one to another ($p < 0.05$).

Table 4. Preference and juiciness scores after tasting the slices of dry cured loin (means \pm standard deviation) for experiment 2. Statistic results obtained after applying Friedman and Wilcoxon-Mann Whitney test for the three different samples are also shown.

EXPERIMENT 2	N	1%	Preference			p	Juiciness			p	
			IBxD-HOVE	IB-HOVE	IB-HOVE high		IBxD-HOVE	IB-HOVE	IB-HOVE high		
session 3											
all consumers	70	40	2.17 \pm 0.798	1.97 \pm 0.834	1.86 \pm 0.804	0.170	57	2.41 ^c \pm 0.691	2.00 ^b \pm 0.799	1.59 ^a \pm 0.752	0.000
under 25	34	32	2.03 \pm 0.834	2.00 \pm 0.853	1.97 \pm 0.797	0.971	50	2.26 \pm 0.790	1.94 \pm 0.776	1.79 \pm 0.845	0.139
over 25	36	47	2.31 \pm 0.749	1.94 \pm 0.826	1.75 \pm 0.806	0.057	67	2.56 ^c \pm 0.558	2.06 ^b \pm 0.826	1.39 ^a \pm 0.599	0.000
session 4											
all consumers	48	46	2.33 ^b \pm 0.724	1.85 ^a \pm 0.799	1.81 ^a \pm 0.842	0.018	71	2.58 ^c \pm 0.679	2.04 ^b \pm 0.651	1.38 ^a \pm 0.640	0.000
under 25	22	32	2.23 \pm 0.752	1.73 \pm 0.827	2.05 \pm 0.844	0.244	64	2.5 ^b \pm 0.740	2.00 ^{ab} \pm 0.690	1.50 ^a \pm 0.740	0.004
over 25	26	58	2.43 ^b \pm 0.703	1.96 ^{ab} \pm 0.774	1.62 ^a \pm 0.804	0.014	77	2.65 ^c \pm 0.629	2.08 ^b \pm 0.628	1.27 ^a \pm 0.533	0.000

1% of subjects that chosen the samples of theoretical highest sensory quality dry cured loins (Ib-HOVE in the session 4 and IB-MON in the session 5) as the most preferred and as the juiciest

^ap: effect was considered significant at $p < 0.05$. Rating scores for preference: 1: most preferred, 2: chosen as most preferred in second place, 3: least preferred. Rating scores for juiciness: 1, the juiciest, 2: chosen as the juiciest in second place, 3: least juicy. Means scores in the same row with different superscript letters (a,b,c) are significantly different from one another ($p < 0.05$).

CAPÍTULO VI

**PHOSPHOLIPID OXIDATION, NONENZYMATIC
BROWNING DEVELOPMENT AND VOLATILE
COMPOUNDS GENERATION IN MODEL SYSTEMS
CONTAINING LIPOSOMES FROM PORCINE
LONGISSIMUS DORSI AND SELECTED AMINO
ACIDS***

* Aceptado en European Food Research and Technolgy

ABSTRACT

Lipid oxidation, nonenzymatic browning development and volatile compounds generation were studied in sterile meat-model systems containing selected amino acids and/or liposomes during 35 days at 25°C under pro-oxidative conditions, in order to simulate the ripening conditions of dry-cured meat products. Liposomes (LPS) were prepared with polar lipids (PL) from *Longissimus dorsi* (LD) muscle of outdoors pigs fed on grass and acorns (LPS-M) or indoors ones fed on concentrates (LPS-C). Thiobarbituric acid reactive substances (TBA-RS) in systems containing both amino acids and liposomes were higher than in those containing only liposomes. The higher susceptibility to lipid oxidation of LPS-C was reflected in higher TBA-RS throughout the experiment. All model systems containing liposomes and/or amino acids showed nonenzymatic browning development, as measured by the yellowness index (YI). Major volatile compounds were fatty acid oxidation products. Strecker-derived volatile compounds were predominantly detected in model systems containing both amino acids and liposomes. The chromatographic areas of Strecker-derived volatiles increased over time whereas those of lipid-derived volatiles decreased. The occurrence of lipid oxidation, Maillard reactions and Strecker degradation of amino acids were shown in sterile meat-model systems at low temperatures.

Keywords: lipid oxidation, nonenzymatic browning, Strecker degradation, liposomes, model system.

VI.1 INTRODUCTION

Ripening conditions (processing time and temperature) and fatty acid compositions of PL of raw meat, are two of the most important factors influencing the volatile profile of dry cured products and particularly of dry-cured Iberian hams.

The particular processing conditions (temperatures from 15 to 25°C, pH near 6, water activities around 0.85 and a processing time up to 30 months) during the processing of Iberian dry-cured hams lead to the occurrence of lipid oxidative phenomena (1, 2, 3) and could favour the development of Maillard reactions, including the oxidative-deamination-decarboxylation of amino acids via Strecker degradation (4). The enormous amount of free amino acids released during the drying phase (5) together with the formation of reactive carbonyls from lipid oxidation (3), could enable the subsequent development of these type of Maillard reactions, and thus the generation of certain branched aldehydes, such as 3-methylbutanal, that have been described as major contributors to the desirable flavour of

Iberian ham (6). Nevertheless, other authors (7, 8) have claimed that Strecker degradation of amino acids is not a possible mechanism for methyl-branched aldehydes formation in dry cured hams, since the temperatures reached during ripening are not high enough. Consequently, these authors pointed out that the only possible source of these aldehydes in dry-cured ham is the microbial metabolism.

The role of PL in the development of the flavour of meat and meat products has been profusely discussed (9). PL are considered the main precursors of lipid oxidation products in meat (10) due to the high degree of unsaturation of their fatty acids, together with the fact that, as components of cells membranes, they are exposed to proteins and other catalysts of lipid oxidative reactions such as metals (11). Aldehydes, the main products of lipid oxidation, seem to be the main contributors to Iberian ham flavour, since they show low olfaction thresholds and distinctive odour characters (e.g. rancid, sweet, floral notes) (12, 13). The fatty acid composition of dietary fat influences the fatty acid composition of PL (14) and thus, the volatile profile in Iberian dry-cured ham (1). The particular PL profile (high MUFA content) of Iberian hams from pigs reared outdoors and fed on grass and acorns, partly explains the high sensory quality of this type of hams compared to those from pigs reared indoors and fed on mixed concentrates (15).

Several studies have been carried out in order to elucidate the influence of the modifications of the fatty acid composition of PL through dietary means, on the volatile profile in different meat-model systems (16, 17). Moreover, numerous works have studied the occurrence of Maillard reactions and the interactions between Maillard and lipid-derived products in model systems containing amino acids or proteins and carbohydrates (18, 19) and/or PL (20, 21). Nevertheless, most of these studies were performed at high temperatures (above 100°C) since they were focused in the study of volatiles generated in cooked meat products. In addition, most meat-model systems included sugars, in order to study the volatiles generation via the classical Maillard reaction between reducing sugars and amino acids.

The objective of the present work was to study the formation of volatile compounds and particularly those from Strecker degradation of amino acids, at low temperatures in model systems mimicking dry-cured products and containing selected amino acids and liposomes from LD with different fatty acids profiles. Lipid oxidation and nonenzymatic browning development were also evaluated.

VI.2. MATERIALS AND METHODS

VI.2.1. Reagents

L-Leucine (minimum 98% TLC), L-Methionine (> 99% TLC) and L-Phenylalanine (minimum 98% TLC) were purchased from Sigma–Aldrich Chemie (Steinheim, Germany). Piperazine-N-N'-bis(2-ethanosulfonate) solutions (10 mM, 0.15 M NaCl, pH 6.0 adjusted with NaOH 0.1N) (PIPES buffer) were prepared with Piperacin acid-1,4-bis-(2-ethanosulfonic) supplied by Panreac Quimica S.A. (Barcelona, Spain) and Mili-Q ultrapure water (18 MΩ). Sodium L(+)-Ascorbate was supplied by Panreac Quimica S.A. (Barcelona, Spain) whereas Iron (III) chloride hexahydrate (FeCl₃), extra pure was purchased from Scharlau Chemie (La Jota, Barcelona, Spain).

The rest of reagents and solvents were of analytical grade and were purchased from Sigma–Aldrich Chemie (Steinheim, Germany).

VI.2.2. Experimental design

Different meat-model systems were prepared: (i) AA, containing three selected amino acids (Phe, Met and Leu), (ii) M and C, containing liposomes (LPS-M or LPS-C) with different fatty acid profiles, (iii) M-AA and C-AA, containing both liposomes and amino acids and (iv) PIPES, containing only the PIPES buffer as blank model system. Liposomes were prepared from LD muscles from Iberian pigs reared in different systems and fed on different diets: free-range reared and exclusively fed on acorn and grass according to the traditional “montanera” feeding systems (LPS-M) or reared indoors and fed on concentrates (LPS-C). Final composition of the six studied model systems is presented in Table 1. The formulation of the model systems was chosen in order to simulate, in a simplified way, the main chemical components of dry-cured meat products and taking into account that the major precursors of Iberian ham flavour are amino acids and fatty acids, especially those from muscle cell membranes PL (1).

The experiment was carried out at 25 °C for 35 days in a pro-oxidant environment (Fe(III)/ascorbate) in order to simulate the conditions occurring during certain phases of Iberian hams ripening process in which the most relevant chemical reactions lead to volatile compounds generation are taken place.

The experimental analyses: volatiles from the headspace, TBA-RS and YI, were carried out at day 0, 7, 21, 28 and 35 of the experiment in each studied model systems

VI.2.3. Liposomes preparation and characterization

Intramuscular total lipids were extracted according to the method described by Bligh and Dyer (22). PL fraction was separated from total lipid by using NH₂-aminopropyl

minicolumns following the method described by Muriel et al. (23). To eliminate all traces of solvent (methanol), PL fraction was maintained under stream of nitrogen for 90 minutes until dryness. Polypropylene cone tubes containing PL were flushed with nitrogen, capped with Teflon and stored at frozen conditions prior to liposomes preparation in order to avoid oxidative reactions.

To prepare liposome suspensions, 30 mL of PIPES buffer were added to tubes containing the PL fraction. The mixture was vigorously stirred for 2 minutes, maintained in a thermostated bath at 37°C for 1 hour and stirred again for 2 minutes each 10 minutes in order to achieve the distribution of PL as multilamellar vesicles (MLV). Large unilamellar vesicles were prepared by extrusion of MLV 10 times through sterilized cellulose acetated membrane filters (0.20 µm diameter of pore). Final liposome suspensions were stored into sterilized propylene cone tubes at 4°C for 12 hours, until model system preparation.

PL concentration of liposomes suspensions was quantified by measuring organic phosphorous following the method described by Barlett (24). PL content was calculated considering that their average phosphorous content was 4% (25).

Fatty acid composition of PL was determined by preparing their corresponding fatty acid methyl esters (FAMES) by acidic trans-esterification in presence of sulphuric acid (5% sulphuric acid in methanol) (26) prior to analysis by gas chromatography using a Hewlett-Packard HP-5890A gas chromatograph coupled to a flame ionisation detector (FID). Separation was carried out on a polyethylene glycol-TPA modified fused silica semicapillary column (30m long, 0.53mm id, 1µm film thickness) maintained at 225°C. Injector and detector temperatures were 230°C. Carrier gas was nitrogen at a flow rate of 1.8 mL min⁻¹. Individual FAME peaks were identified by comparing their retention times with those of standards (Sigma, St Louis).

The peroxidisability index (PI) reflects the relative rates of peroxidation of each fatty acids and was calculated from the following equation as described by Meynier et al. (16): $PI = (\% \text{ monoenoic} \times 0.025) + (\% \text{ dienoic} \times 1) + (\% \text{ trienoic} \times 2) + (\% \text{ tetraenoic} \times 4) + (\% \text{ pentanoic} \times 6) + (\% \text{ hexanoic} \times 8)$.

VI.2.4. Model systems preparation

Three amino acid stock solutions (6.5mg mL⁻¹) (Phenylalanine, Methionine and L-Leucine) were prepared with PIPES buffer and stored at 4°C for 12 hours until model systems preparation. Three amino acids with different chemical characteristics were chosen: an aliphatic (L-Leu), an aromatic (Phe) and a sulphur (Met) amino acid. Sodium

ascorbate and FeCl₃ stock solutions in ultra pure mili-Q water were daily prepared and mixed in equimolar concentrations just before being used.

All the stock solutions (amino acids, PIPES, FeCl₃, ascorbate and liposome suspensions) were filtered through sterilized acetated of cellulose membranes (0.2 µm pore diameter) before model system preparation, in order to guarantee the absence of microbial contamination that could interfere with experimental results. All laboratory material used to prepare and stored liposome suspensions and model systems was sterilized in an autoclave (SELECTA, presoclave 75). Moreover, in order to keep sterile conditions, model systems preparation was carried out in a laminar flow chamber. All model systems (final volume of 6 mL) were prepared in triplicate, in sterilized glass vials (12 mL) sealed with a teflon/silicone septum and containing a final concentration of 0.5 mg PL/mL of liposomes, 0.5 mg/mL of each amino acid and 45 µM of pro-oxidant solution (Fe (III)/ascorbate). The different components of the model systems were poured into sterilized glass vials from the corresponding stock solutions in the following order: PIPES, liposomes, amino acids and finally the pro-oxidant solution. All the mixed model systems were kept in an orbital shaker device (Innova 4000, PACISA, New Bruswick scientific) at 25°C in constant agitation (125 r.p.m) for 35 days.

VI.2.5. TBA Reactive Substances (TBA-RS)

TBA-RS were measured according to the method described by Buege and Aust (27) from aliquots of 0.250 µL of each model system. Briefly, 2 mL of the TBA reagent [trichloroacetic acid (TCA) 15 %, TBA 0.375%, hydrochloric acid (HCL) 0.25 M] and 750 µL of ultrapure water (miliQ) were added to TBA-tubes containing the aliquot. The reaction mixture was heated at 100 °C for 15 minutes. After cooling, samples were centrifuged at 2000 rpm for 15 minutes. The absorbance of supernatant was measured at 532 nm, against a blank. The results were expressed in nmoles equivalent malonaldehyde mg⁻¹ PL (nmole eq MDA mg⁻¹ PL) using the molar extinction coefficient of the TBA-MDA adducts at 532 nm ($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

VI.2.6. Browning measurement

The browning of the solutions (1mL) was determined by using the weighted-ordinate method (Hunter, 1973). Tristimulus values (*X*, *Y*, *Z*) were calculated from the transmittances (*T*) obtained by spectrophotometry from 400 to 700 nm at constants intervals of 10 nm. Transmittances values were then converted into the corresponding Tristimulus and into the CIELAB L*, a* and b* color values (CIE, 1978). The yellowness

index (YI) at different times, was calculated according to Francis and Clydeslade (28) as follow: $YI = 142.86b^*/L^*$

VI.2.7. Analysis of volatile compounds from the headspace of model systems by SPME-GC-MS

Volatile compounds were analysed by HS-SPME and GC/MS (gas chromatograph Hewlett-Packard 5890 series II coupled to a mass selective detector Hewlett-Packard HP-5791 A). 1 mL from each model system was poured into a vial (4 mL) and sealed with a teflon/silicone septum. A magnetic stirrer was placed into the model systems for stirring during the extraction. An SPME fiber (85 μ m carboxen-polidimethylsiloxane coating) was inserted through the septum and exposed to the headspace of the vial.

Vials were preconditioned for 30 min at 37°C. Extraction was carried out at 37°C for 30 min in a water bath. After extraction, the SPME fibre was immediately transferred to the injector of the chromatograph which was in splitless mode at 280°C. The separation of volatile compounds was performed on a 5% Phenyl-Methyl Silicone (HP-5) bonded phase fused silica capillary column (Hewlett-Packard, 50m x 0.32 mm i.d, film thickness 1.05 μ m), operating at 6 psi of column head pressure, resulting in a flow of 1.3 mL min⁻¹ at 40°C. Oven program was: 40°C for 10 min, 5°C min⁻¹ to 200°C, 20°C min⁻¹ to 250°C, and held 250°C for 5 min. Transfer line to the mass spectrometer was maintained at 280°C. The mass spectra were obtained using a mass selective detector by electronic impact at 70eV, a multiplier voltage of 1756 V and collecting data at a rate of 1 scan s⁻¹ over the m/z range 30-500.

VI.2.8. Identification of volatile compounds

Eighteen volatile compounds were positively identified by comparing their linear retention indexes (LRI) and mass spectra with those of standard compounds (Sigma, St. Louis, USA) run in the same conditions. The rest were tentatively identified by comparing their mass spectra with those reported in the Wiley library and by comparing their LRI with those reported in the literature (29) and in the NIST database (30). Results from the volatiles analysis are provided in area units (AU).

VI.2.9. Microbial analysis

An aliquot of 100 μ L was taken from the model systems the last day of the experiment (day 35) and inoculated in Petri plates containing Standard plate count agar (PCA) in order to confirm the absence of microbial growth in the model systems during the experiment. Plates were examined after 48 hours of incubation at 30°C for microbial counts. All the model systems that presented microbial growth were discarded.

VI.3. RESULTS AND DISCUSSION

VI.3.1. Fatty acid profile of PL

Table 2 shows the proportion of total saturated fatty acids (SFA), monounsaturated fatty acids (MUFA), polyunsaturated fatty acids (PUFA), n-6 and n-3-fatty acids, and the PI of LPS-M and LPS-C. Overall, fatty acid composition of PL isolated from LD muscle tended to reflect that of the diets. LPS-C showed higher proportion of PUFA, primarily n-6 fatty acids, and lower of MUFA and SFA than LPS-M. Consistently, LPS-C had higher PI values than LPS-M (97.09 vs 76.55) as a consequence of a higher PUFA content that could affect their oxidative susceptibility. The influence of the feeding systems on the fatty acid composition of PL of LD muscle will be profusely discussed elsewhere.

VI.3.2. Liposomes oxidation

The evolution of TBA-RS expressed as nmoles of MDA/mg PL from studied model system is shown in Figure 1. TBA-RS found in this work are similar to those reported in oxidized liposomes from PL of turkey breast (16) and from PL of porcine muscle (31). In the present study, the highest TBA-RS detected were those recorded at day 0 whatever the model system, and thereafter, there was a slight decrease until the end of the experiment. This evolution of TBA-RS agrees with the tendency observed during the Iberian ham process, in which an increase in TBA-RS and a subsequent decrease and stabilization have been described (2). Nevertheless, Meynier et al. (16) and Kansci et al. (31), working with oxidized liposomes, reported an increase in TBA-RS numbers throughout all the experiment. However, these studies were carried out only for 24 hours, whereas in the present work, the second measurement of TBA-RS was carried out at day 7 of the experiment, which could explain the lack of TBA-RS increase over time.

In model systems containing only amino acids (AA) or PIPES buffer, no TBA-RS were detected, and therefore they are not shown in Figure 1.

Overall, model systems containing both amino acids and liposomes (M-AA and C-AA) revealed higher TBA-RS than model systems containing only liposomes (M and C systems). It could be that products of oxidized amino acids had enhanced lipid oxidative reactions leading to higher TBA-RS. Protein oxidation is manifested by free radical chain reactions similar to those for lipid oxidation, which involve initiation, propagation and termination stages (32). Oxidation products, mainly free radicals and carbonyl compounds, of the three amino acids selected for this studied (Met, Leu and Phe) were described by Stadman and Berlett (33). However, it is surprising that M-AA and C-AA model systems

showed higher TBA-RS values than their counterparts model systems containing only liposomes (M and C), since the possible formation of Maillard Reaction Products (MRP), with a acknowledged antioxidant activity (34, 35) should have limited lipid oxidative phenomena

Model systems containing LPS-C (C and C-AA) tended to show higher TBA-RS values than their containing LPS-M counterparts (M and M-AA) except in C-AA model system at day 21 and 28. This could be due to the higher oxidative susceptibility of LPS-C compared to LPS-M, because of their greater proportion of PUFA and their higher PI values (Table 2). Accordingly, Meynier et al. (16) reported higher TBA-RS in oxidized liposomes from PL of turkey fed on diets enriched with oils with high PUFA content and high PI values than in those from turkey fed on tallow-enriched-diet.

VI.3.3. Browning development

Figure 2 shows the evolution of YI in the studied model systems throughout incubation time. As expected, model systems containing only amino acids (AA) almost did not develop colour. In contrast, browning development was observed in model system containing both liposomes and amino acids (C-AA and M-AA) and in those with only liposomes (C and M).

C-AA and M-AA model systems exhibited higher YI values than their counterparts model systems containing only liposomes, (M and C). Moreover, M-AA model systems revealed the highest YI throughout the whole experiment, except at day 0. The occurrence of Maillard reactions and lipid-amino acid interactions in model systems containing both liposomes and amino acids could explain these results, since the products of such type of reactions have been described as responsible of “brown” color development (34).

The development of nonenzymatic browning in model systems containing only liposomes could be due to the formation of pigments as a consequence of the reaction between the amino group of certain PL of liposomes, particularly phosphatidylethanolamine, with carbonyl lipid oxidation products (36). Phosphatidylethanolamine is the second major phospholipids (21-22 %) in the intramuscular fat of Iberian pigs (37) and therefore, in the liposomes of the studied model systems.

VI.3.4. Volatile compounds

47 out of 180 volatile compounds detected in the headspace of M, M-AA, C, C-AA and AA model systems at day 0, 7, 21, 28 and 35 of the experiment, were selected and are shown in Table 3. These compounds were chosen based on their presence in most model systems and on their proportion of chromatographic area in the headspace of the studied

model systems. Selected compounds included twenty seven aldehydes, seven ketones, five alcohols, four hydrocarbons, four sulphur compounds, two furans, one acid and one thiazole.

Major compounds detected in the headspace of the studied model systems were typical fatty acids oxidation products (9). Among these, the most abundant lipid-derived volatiles (above 10^8 AU of chromatographic area at day 7) in M, M-AA, C and C-AA model systems, were saturated aldehydes (pentanal, hexanal, heptanal, octanal and nonanal), unsaturated aldehydes (hept-(Z)-2-enal, oct-(E)-2-enal) and the co-elution of oct-1-en-3-one/oct-1-en-3-ol. Volatiles from Strecker degradation of the selected amino acids (38, 39, 40) (methanethiol, 3-methylbutanal, dimethyl disulphide, dimethyl sulphide, trimethyl trisulphide, methional, benzaldehyde and phenylacetaldehyde) were mainly isolated from the headspace of model systems containing both liposomes and amino acids.

Volatile profiles described from the headspace of the M and C model systems (Table 3) are similar to those previously reported in the headspace of model systems containing liposomes from PL from turkey breast (16) and from porcine LD (31) under similar oxidative conditions. In addition, compounds listed in Table 3 have been previously reported as volatile components of Iberian dry-cured products, including Iberian hams (23, 6) and other dry-cured meat products (41). Moreover, some of them have been previously described as odor active compounds in Iberian ham with different odor descriptors (12, 13), as for example, methanethiol, 3-methylbutanal, pent-1-en-3-one, hexanal, hex-(E)-2-enal, heptan-2-one, oct-1-en-3-one/ oct-1-en-3-ol and octanal.

Regarding to lipid-derived volatiles, diet affected volatile compounds formed in model systems containing liposomes (Table 3). Thus, systems containing LPS-C, with high levels of PUFA and n-6 fatty acids (C and C-AA), showed greater chromatographic areas of lipid derived-volatiles, particularly of those derived from n-6 fatty acids such as hexanal, deca-(E,E)-2,4-dienal and 2-pentyl-furan, which arise mainly from linoleic acid (C18:2, n-6) (17, 41). Hexanal was the major volatile whatever the studied model systems. Hexanal and deca-(E, E)-2,4-dienal have been associated to the development of warmed over flavour in cooked meat (9) and hexanal has shown good correlations with rancid notes in dry-cured ham (1). Model systems containing LPS-C exhibited higher chromatographic areas of deca-(E,E)-2,4-dienal than those containing LPS-M, in accordance with studies in Iberian hams where this volatile compound has been largely reported in hams from pigs fed on concentrates (high PUFA content) than in those from pigs fed on acorns in “montanera” system.

All Strecker-derived volatile compounds were detected in the headspace of model system containing liposomes and the selected amino acids Leu, Met and Phe. These compounds included methyl branched aldehydes such as 3-methylbutanal and 3-methylthiopropional, derived from Leu and Met respectively, sulphur compounds such as methanethiol and dimethyl disulphide, derived from Met, and aromatic compounds derived from Phe, such as benzaldehyde and phenylacetaldehyde (39, 4, 38, 40). Dimethyl disulphide is an oxidation product of methanethiol, and can further react to form dimethyl trisulphide and dimethyl sulphide (41) which have been also isolated from the headspace of studied model systems.

The Strecker degradation of amino acids, which is a minor pathway of the Maillard reactions (42), involves the oxidative deamination and decarboxilation of α -amino acids in the presence of α -dicarbonyl compounds such as reducing sugars or some lipid oxidation products (38). The temperature, pH and pro-oxidative experimental conditions established on studied model systems for 35 days, similar to those present during the processing of dry-cured meat products, seem to encourage the generation of a great number of lipid-derived carbonyl compounds, particularly volatile aldehydes, that could have reacted with the amino acids from the model systems leading to the formation of aforementioned Strecker compounds. Several volatile compounds such as malondialdehyde (43), deca-2,4-dienal (44) and hexanal (45) have been reported as lipid-oxidation products that can react with the reactive groups of the amino acids and proteins.

Ventanas et al. (4) have previously hypothesized that reactions between free amino acids and carbonyls could be an important source of flavour compounds in Iberian dry-cured hams. However, Hinrichsen et al.(7, 8) established that methyl branched aldehydes including the 3-methylbutanal can be generated by secondary metabolism of microorganism and also claimed that Maillard and Strecker reactions only take place at higher temperatures than those reached during dry-cured ham processing. Nevertheless, the detection of Strecker-derived volatiles in the studied model systems supports the occurrence of this type of reaction under the established environmental conditions, similar to those reached during dry-cured ham process. Moreover, our results are in agreement with those reported by other authors who have described the occurrence of Strecker reactions at low temperatures in different model systems (39, 40). Previous studies have revealed low microbial counts inside dry-cured hams (46). Thus, microbial metabolism cannot be considered the only possible source of generation branched aldehydes in dry cured products.

Numerous studies have been aimed to study Strecker-derived volatiles formation in model systems containing amino acids in the presence of ribose (18, 19), glucose (42) epoxy derivates compounds (40, 36) and other carbonyl compounds such as diacetyl or pentan-2,3-dione (39). In others studies, PL (21) or lipidic systems such as cocoa butter (38) were included into amino acid-sugar model systems. However, most of these studies were performed at high temperatures to simulate the conditions during meat cooking. In some studies, experimental temperatures were low: 25°C (39) or 37°C (40, 36). Nevertheless, in these papers, the generation of Strecker derived compounds was achieved using synthetic carbonyl compounds and was performed for a short period of incubation (overnight) (39). To our knowledge, this study is the first in which Strecker derived volatiles generation is studied in model systems mimicking meat products containing amino acids and lipids without any a reducing sugar.

Overall, M-AA systems exhibited greater chromatographic area than C-AA ones for methanethiol, dimethyl disulphide, and 3-methyl-butanal (Table 3). The major Strecker-derived volatile compound in M-AA model systems was dimethyl disulphide, whereas in C-AA systems was phenylacetaldehyde.

The evolution of chromatographic areas of lipid-derived and Strecker-derived volatiles in model systems containing both liposomes and amino acids are shown in Figure 3. Overall, the variety of lipid-oxidation derived volatiles (Table 3) and their chromatographic areas increased from day 0 to day 7 and thereafter slightly decreased until the end of the experiment. Strecker volatiles exhibited the opposite behaviour particularly in model systems containing both amino acids and liposomes (M-AA and C-AA). In M-AA systems Strecker-derived compounds increased throughout incubation time, whereas lipid-derived volatiles decreased, probably due to the reaction between carbonyl compounds derived from lipid oxidation and amino acids leading to Maillard and Strecker volatiles formation. Previous studies in Iberian dry cured ham, have described a similar volatiles evolution during processing (47, 6). Although certain Strecker compounds were found in systems without amino acids, their chromatographic areas were considerable smaller than those reported in systems containing amino acids. The detection of Strecker-derived volatiles in model systems containing only liposomes supports that the amino group of phospholipids (48), as this of amino acids or proteins, can react with lipid oxidation products, leading to the formation of Maillard reactions products and Strecker derived compounds.

Similarly to the results of the evolution of YI over the time (Figure 2), M-AA systems exhibited higher chromatographic areas of Strecker-derived volatiles than C-AA ones. In

fact, in C-AA model systems no increase in neither browning nor Strecker-derived volatiles was observed over time. Moreover, the similar behaviour of browning and Strecker-degradation throughout the experiment suggests that both reactions take place simultaneously, and that Strecker-derived volatiles together with other Maillard reaction products could contribute to browning development.

Oxidized phospholipids, particularly oxidized phosphatidyletanolamine, could also have played an important role inhibiting lipid oxidative phenomena. In fact, Hidalgo et al. (48) have reported that the antioxidative activity of phospholipids increases during their oxidation as a consequence of amino-carbonyl reactions and the subsequent formation of compounds with antioxidative properties.

VI.4. REFERENCES

- (1) Ruiz, J.; Muriel, E.; Ventanas, J. The flavour of Iberian ham. In *Research Advances in the Quality of Meat and Meat products*; Toldrá, F., Ed.; Research Singpost; Trivandrum Kerala, India, 2002; pp 290-309.
- (2) Andrés, A.I.; Cava, R.; Ventanas, J.; Ruiz, J. Lipid oxidative changes throughout the ripening of dry-cured Iberian hams with different salt contents and processing conditions. *Food Chem.* **2004**, *84*, 375-381.
- (3) Antequera, T.; López-Bote, C.; Córdoba, J.J.; García, C.; Asensio, M.A.; Ventanas, J. Lipid oxidative changes in the processing of Iberian pig hams. *Food Chem.* **1994**, *45*, 105-110.
- (4) Ventanas, J.; Córdoba, J. J.; Antequera, T.; García, C.; López-Bote, C.; Asensio, M.A. Hydrolysis and Maillard Reactions During Ripening of Iberian Ham. *J. Food. Sci.* **1992**, *57*, 803-815.
- (5) Córdoba, J.J.; Antequera, T.; García, C.; Ventanas, J.; López-Bote, C.; Asensio, M.A. Evolution of free amino acids and amines during ripening of Iberian cured ham. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 2296-2301.
- (6) Ruiz, J.; Ventanas, J.; Cava, R.; Andrés, A.I.; García, C. Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process. *Meat Sci.* **1999**, *52*, 19-27.
- (7) Hinrichsen, L.L.; Andersen, H.J. Volatile Compounds and Chemical Changes in Cured Pork: Role of Three Halotolerant Bacteria. *J. Agric. Food. Chem.* **1994**, *42*, 1537-1542.
- (8) Hinrichsen, L.L.; Pedersen, S.B. Relationship among Flavour, Volatile Compounds, Chemical Changes and Microflora in Italian-Type Dry-Cured Hams during processing. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 2932-2940.
- (9) Mottram, D.S. Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chem.* **1998**, *62*, 415-424.
- (10) Pikul, J.; Leszczynski, D.E.; Kummerow, F.A. Relative role of phospholipids, triacylglycerols and cholesterol esters on malonaldehyde formation in fat extracted from chicken meat. *J. Food Sci.* **1984**, *49*, 704-708.

- (11) Boylston, T.D.; Morgan, S.A.; Johnson, K.A.; Wright, R.W.; Busboom, J.R.; Reeves, J.J. Volatile lipid oxidation products of Wagyu and domestic breeds of beef. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 1091-1095.
- (12) Carrapiso, A.I.; Ventanas, J.; García, C. Characterization of the Most Odor-Active Compounds of Iberian Ham Headspace. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 1996-2000.
- (13) Carrapiso, A.I.; Jurado, A.; Timón, M.L.; García, C. Odor-Active Compounds of Iberian Hams with Different Aroma Characteristics. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 6453-6458.
- (14) Cava, R.; Ruiz, J.; López-Bote, C.; Martín, L.; García, C.; Ventanas, J.; Antequera, T. Influence of finishing diet on fatty acid profiles of intramuscular lipids, triglycerides and phospholipids in muscles of the Iberian pig. *Meat Sci.* **1997**, *2*, 263-270.
- (15) Cava, R.; Ruiz, J.; Ventanas, J.; Antequera, T. Oxidative and lipolytic changes during ripening of Iberian hams as affected by feeding regime: extensive feeding and alpha-tocopheryl acetate supplementation. *Meat Sci.* **1999**, *52*, 165-172.
- (16) Meynier, A.; Genot, C.; Gandemer, G. Oxidation of muscle phospholipids in relation to their fatty acid composition with emphasis on volatile compounds. *J. Sci. Food Agric.* **1999**, *79*, 797-804.
- (17) Elmore, J.S.; Mottram, D.S.; Enser, M.; Wood, J.D. Effect of polyunsaturated Fatty Acid Composition of Beef muscle on the Profile of Aroma Volatiles. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 1619-1625.
- (18) Meynier, A.; Mottram, S.D. The effect of pH on the formation of volatile compounds in meat-related model systems. *Food Chem.* **1995**, *52*, 361-366.
- (19) Cerny, C.; Davidek, T. Formation of Aroma Compounds from Ribose and Cysteine during the Maillard Reaction. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 2714-2721.
- (20) Elmore, J.S.; Campo, M.M.; Enser, M.; Mottram, D.S. Effect of lipid composition on meat-like model systems containing cysteine, ribose and polyunsaturated fatty acids. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 1126-1132.
- (21) Mottram, D.S.; Whitfield, F.B. Volatile compounds from the reaction of cysteine, ribose, and phospholipids in low-moisture systems. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 984-988.
- (22) Bligh, E. G.; Dyer, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Phys.* **1959**, *37*, 911-917.
- (23) Muriel, E.; Ruiz, J.; Ventanas, J.; Petró, M.J.; Antequera, T. Meat quality characteristics in different lines of Iberian pigs. *Meat Sci.* **2004**, *67*, 299-307.
- (24) Barlett, G.R. Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.* **1959**, *234*, 466-468.
- (25) Wangen, R.M.; Marion, W.W.; Hotchkiss, D.K. Influence of age on total lipids and phospholipids of turkey muscle. *J. Food Sci.* **1971**, *36*, 560-562.
- (26) Sandler, S.R.; Karo, W. Source book of advances organic laboratory preparations. 1992. Academic Press, San Diego.
- (27) Buege, J.A.; Aust, S.D. Microsomal lipid peroxidation. In *Methods in enzymology*. Parker, L., Fleischer, S., Eds.; Publisher: New York, Academy Press, 1978; pp 302-312.
- (28) Francis, F.J.; Clydeslade, F.H. *Food colorimetry: theory and applications*. 1975. AVI Publishing, Westport, CT.

- (29) Kondjoyan, N.; Berdagué, J.L. In *Compilation of Relative Retention Indices of the Analysis of Aromatic Compounds*. Publisher: Laboratoire Flaveur, station de recherches sur la viande, INRA; Theix, France. 1996.
- (30) NIST - National Institute of Standards and Technology database. <http://webbook.nist.gov>
- (31) Kansci, G.; Genot, C.; Meynier, A.; Gandemer, G. The antioxidant activity of carnosine and its consequences on the volatile profile of liposomes during iron/ascorbate induced phospholipid oxidation. *Food Chem.* **1997**, *60*, 165-175.
- (32) Schaich, K.M. Free radical initiation in proteins and amino acids by ionizing and ultraviolet radiations and lipid oxidation. III: Free radical transfer from oxidizing lipids. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1980**, *13*, 189-244.
- (33) Stadman, E.R.; Berlett, B.S. Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Chem. Res. Toxicol.* **1997**, *10*, 484-494.
- (34) Mastrocola, D.; Munari, M.; Cioroi, M.; Lericci, C.R. Interaction between Maillard reaction products and lipid oxidation in starch-based model systems. *J. Sci. Food Agric.* **2000**, *80*, 684-690.
- (35) Osada, Y.; Shibamoto, T. Antioxidative activity of volatile extracts from Maillard model systems. *Food Chem.* **2006**, In press.
- (36) Zamora, R.; Nogales, F.; Hidalgo, F.J. Phospholipid oxidation and nonenzymatic browning development in phosphatidylethanolamine/ribose/lysine model systems. *Eur. Food Res. Technol.* **2005**, *220*, 459-465.
- (37) Tejada, J.L. Estudio de la influencia de la raza y de la alimentación sobre la fracción lipídica intramuscular del cerdo Ibérico. Doctoral Thesis. **1999**; Universidad de Extremadura.
- (38) Arnoldi, A.; Arnoldi, C.; Baldi, O.; Griffini, A. Strecker Degradation of Leucine and Valine in a Lipidic Model System. *J. Agric. Food Chem.* **1987**, *35*, 1035-1038.
- (39) Pripis-Nicolau, L.; de Revel, G.; Bertrand, A.; Maujean, A. Formation of Flavour Components by the Reaction of Amino Acid and Carbonyl Compounds in Mild Conditions. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 3761-3766.
- (40) Hidalgo, F.J.; Zamora, R. Strecker-type Degradation by the Lipid Oxidation Products 4,5-Epoxy-2-Alkenals. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 7126-7131.
- (41) Flores, M.; Spanier, A.M.; Toldrá, F. Flavour analysis of dry-cured ham. In *Flavour of meat and meat products and seafoods*. Second edition.; Shahidi, F., Eds.; Publisher: Blackie Academic and Professional, London, UK. 1998; pp 320-341.
- (42) Cremer, D.R.; Eichner, K. The reaction kinetics for the formation of Strecker aldehydes in low moisture model systems and in plant powders. *Food Chem.* **2000**, *71*, 37-43.
- (43) Itakura, K.; Uchida, K.; Osawa, T. A novel fluorescent malondialdehyde-lysine adduct. *Chem. Phys. Lipids.* **1996**, *84*, 75-79
- (44) Leake, L.; Karel, M. Nature of fluorescent compounds generated by exposure of protein to oxidizing lipids. *J. Food Biochem.* **1985**, *9*, 117-136
- (45) Kaneko, S.; Okitani, A.; Hayase, F.; Kato, H. Identification of an intermediate product and formation mechanisms of cross-linking compounds from N^α-acetyltryptophan and hexanal. *Agric. Biol. Chem.* **1991**, *55*, 723-730.

- (46) Molina, I.; Toldrá, F. Detection of proteolytic activity in microorganism isolated from dry-cured ham. *J. Food Sci.* **1992**, *57*, 1308-1310.
- (47) Jurado, A. Evolución de compuestos relacionados con el sabor y el aroma del jamón Ibérico de distintas calidades durante su procesado. Doctoral Thesis. **2005**; Universidad de Extremadura, Spain.
- (48) Hidalgo, F.J.; Nogales, F.; Zamora, R. Changes produced in the Antioxidative Activity of Phospholipids as a Consequence of their oxidation. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 659-662.

Table 1. Studied model systems and their composition.

	LPS-M	LPS-C	Phe	Met	Leu	Fe(III)/ascorbate	PIPES
M	*					*	*
M-AA	*		*	*	*	*	*
C		*				*	*
C-AA		*	*	*	*	*	*
AA			*	*	*	*	*
PIPES						*	*

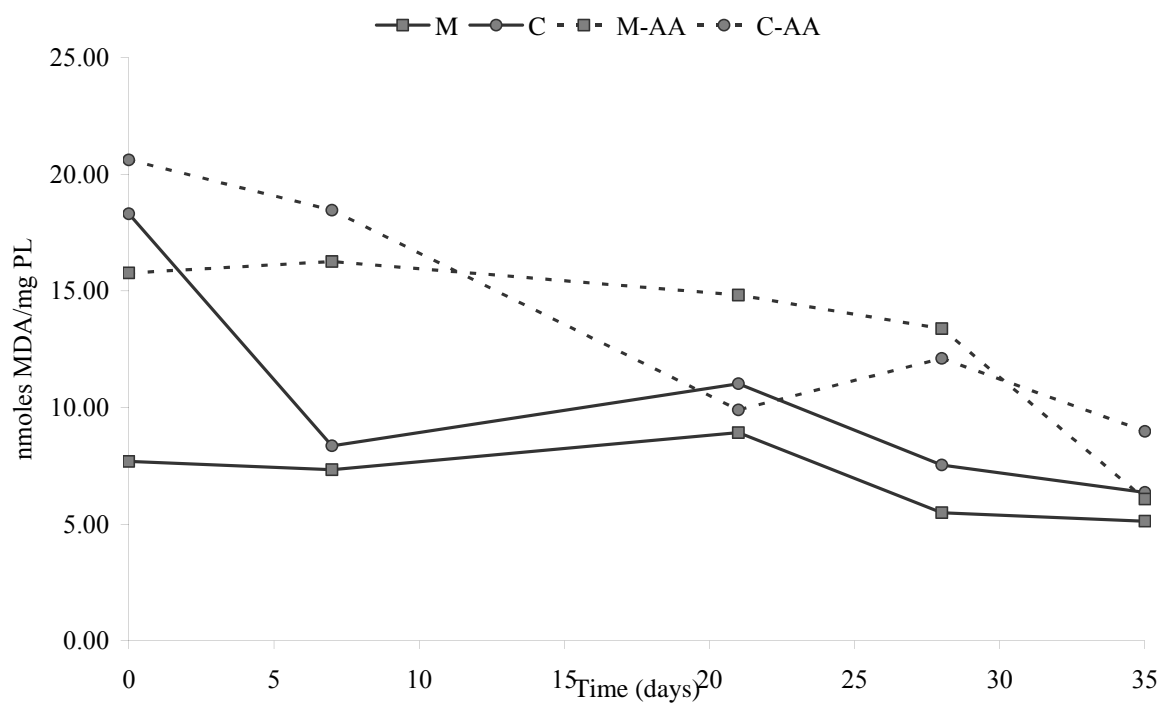
LPS-M: Liposomes from PL of *l. dorsi* from Iberian pigs reared in “montanera” systems and fed on acorn and grass.

LPS-C: Liposomes from PL of *l. dorsi* from Iberian pigs reared indoors and fed on concentrates.

Table 2. Fatty acid profile and peroxidisability index (PI) of PL from liposomes included in the studied model systems.

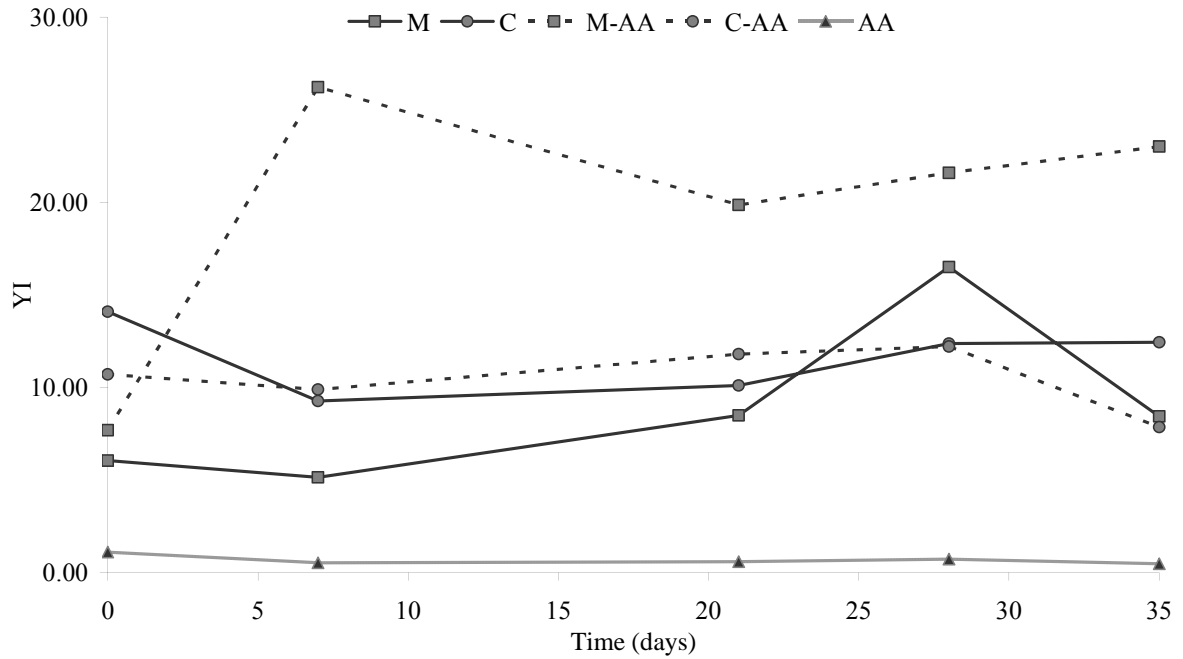
	Σ SFA	Σ MUFA	Σ PUFA	Σ n6	Σ n3	PI
LPS-C	33.03	15.44	51.53	48.79	2.32	97.09
LPS-M	44.24	16.60	38.21	35.74	2.10	76.55

Results of total SFA, MUFA, PUFA, n6 and n3 are expressed in % of total FAME.

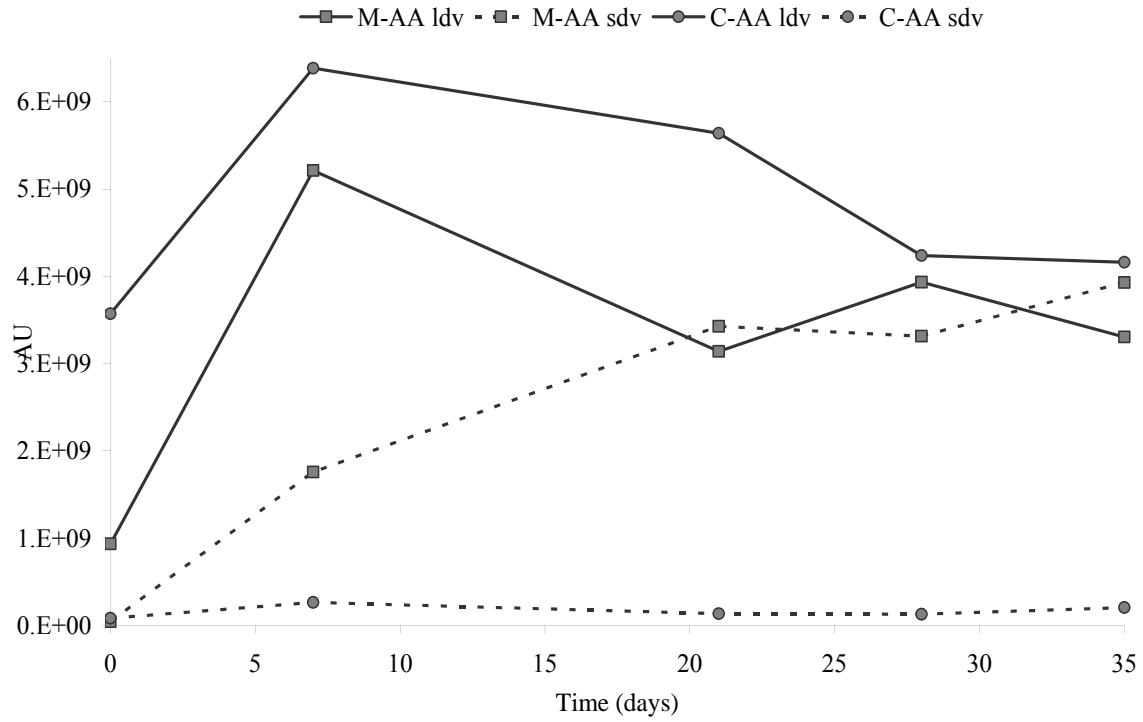
1 **Figure 1.** Liposomes oxidation measured as TBA-RS in the studied model systems.

2

- 1 **Figure 2.** Browning development in model systems containing only amino acids (AA)
- 2 or only liposomes (M and C) or both liposomes and amino acids(M-AA and C-AA).
- 3 measured as yellowness index (YI).



- 1 **Figure 3.** Evolution of chromatographic areas of lipid-derived volatiles (ldv) and
- 2 Strecker derived volatiles (sdv) in model systems containing amino acids and LPS-M or
- 3 LPS-C.



CAPÍTULO VII

ANÁLISIS DE COMPUESTOS VOLÁTILES EN LOMOS DE CERDO IBÉRICO CON DIFERENTE CONTENIDO EN GRASA INTRAMUSCULAR DURANTE LA FASE DE SECADO-MADURACIÓN

RESUMEN

Se estudió el perfil de compuestos volátiles presentes en el espacio de cabeza de 10 lomos de cerdos de raza Ibérica pura explotados en régimen de montanera con diferente contenido en grasa intramuscular (GIM) (bajo y alto contenido en GIM), analizados mediante microextracción en fase sólida (SPME) acoplada a un dispositivo de extracción directa (DED) a los 40 y 55 días de procesado. Cuantitativamente, las áreas cromatográficas obtenidas para las principales familias químicas estudiadas (hidrocarburos, aldehídos, alcoholes, cetonas y ácidos) aumentaron con el tiempo de procesado. En el espacio de cabeza de los lomos de alto contenido en GIM se detectó una mayor cantidad de compuestos volátiles totales que en los de bajo contenido en GIM. La mayor parte de los compuestos volátiles derivados directa o indirectamente de la oxidación lipídica, entre los que destacan algunos aldehídos saturados como el hexanal y el octanal, aldehídos insaturados como el 2,4-heptadienal (E, E) y el 2 -decenal (E) y compuestos derivados de las reacciones de Strecker como el metildisulfuro, el 3-metilbutanal y el fenilacetaldehído, presentaron mayores áreas cromatográficas en el espacio de cabeza de los lomos con alto contenido en GIM. Además, el contenido en GIM pareció influir sobre la transferencia de los compuestos desde la matriz del producto al espacio de cabeza, de manera que compuestos muy lipofílicos (1-hexadecanol, ácido nonanoico, ácido dodecanoico) presentaron menores áreas cromatográficas en los lomos de alto contenido en GIM mientras que por el contrario para compuestos más polares (2-butanona, metildisulfuro) las áreas cromatográficas detectadas en los lomos de alto contenido en GIM fueron superiores a las presentadas en los de bajo contenido en GIM.

Palabras clave: Lomo Curado, Tiempo de procesado, Grasa Intramuscular, Volátiles, SPME-DED.

VII.1. INTRODUCCIÓN

Durante la maduración de los productos cárnicos derivados del cerdo Ibérico se producen profundos cambios químicos y bioquímicos en los constituyentes principales de la materia prima, lípidos y proteínas, que determinan la formación de una serie de compuestos volátiles, algunos con bajos umbrales de olfacción y con notas aromáticas características que van a determinar el peculiar flavor presentado por este tipo de productos al final del procesado (Ruiz y cols., 2002a). Teniendo en cuenta los estudios realizados en jamón Ibérico, la degradación lipolítico-oxidativa junto con la proteólisis y la degradación de Strecker de los aminoácidos son las reacciones de mayor importancia en la generación de

los compuestos volátiles responsables del aroma, así como de compuestos precursores implicados en reacciones secundarias de formación de volátiles (Ruiz y cols., 2002a). Existen diferentes factores que determinan el desarrollo de estas reacciones, entre los que destaca la temperatura y la duración del procesado. En el caso del jamón Ibérico, durante el procesado se producen dos picos de oxidación lipídica, uno durante la etapa de post-salado y un segundo ya en la fase final de bodega. En lo referente a los fenómenos de proteolisis, estos están influidos principalmente por la temperatura, de forma que la mayor actividad proteolítica tiene lugar durante la fase de secadero cuando se produce un incremento de la misma. La evolución de este tipo de reacciones a lo largo del procesado del lomo Ibérico no se ha estudiado de manera tan precisa. No obstante, los resultados obtenidos en relación al perfil de volátiles final y los índices de oxidación (Muriel., 2003; capítulo II de la presente Tesis doctoral) sugieren un desarrollo similar aunque el tiempo de procesado sea más corto y las temperaturas alcanzadas no tan elevadas.

Existen diversos estudios realizados en productos del cerdo Ibérico, ya sean jamones o lomos, en los que se ha descrito la importancia del contenido graso, principalmente de la grasa intramuscular (GIM), sobre muchos de los atributos determinantes de la calidad del producto final como el aroma o la jugosidad, así como en la preferencia y aceptabilidad por parte de los consumidores (Ruiz y cols.2002b; Muriel y cols., 2004; capítulos IV y V de la presente tesis doctoral). Sin embargo, no existe prácticamente información respecto a la influencia del contenido en GIM sobre la dinámica de formación y liberación de los compuestos volátiles durante el procesado. Estévez y cols. (2005) en un estudio realizado en patés de cerdo Ibérico observaron diferentes efectos del contenido graso sobre la detección de compuestos volátiles derivados de la oxidación lipídica. Estos autores describen que la cantidad de compuestos volátiles presentes en el espacio de cabeza de los patés era superior en patés con un contenido medio en grasa respecto a aquellos con un contenido bajo. Sin embargo cuando el contenido graso de los patés superaba un determinado nivel descendía la cantidad total de volátiles detectados en el espacio de cabeza.

En los últimos 10 años, se han llevado a cabo numeroso estudios científicos por diferentes grupos de investigación, en relación al efecto del contenido graso sobre la liberación de una amplia variedad de compuestos volátiles. Sin embargo, estos estudios se han centrado en sistemas modelo constituidos por emulsiones grasas (Jo y Ahn., 1999; Seuvre y cols., 2000) así como en sistemas más complejos que incluyen además del componente lipídico, proteínas (principalmente β -lactoglobulina) (Seuvre y cols., 2001) y/o hidratos de carbono

(Philippe y cols., 2003). Los trabajos realizados sobre productos reales se han limitado a queso (Dubois y cols., 1994; Piraprez y cols., 1998), yogur (Brauss y cols., 1999) y salchichas (Chevance y Farmer., 1999). En este sentido, no se ha encontrado en la literatura científica consultada ningún trabajo referido a cómo el contenido en GIM puede afectar a la dinámica de formación y liberación de los compuestos volátiles en un producto íntegro que sigue un proceso de secado-maduración, como es el caso del lomo Ibérico. Tradicionalmente el contenido graso, y especialmente en GIM, ha sido un criterio de selección de la materia prima para la producción de salazones cárnicas como jamones y lomos, como consecuencia de su influencia en el desarrollo del aroma y la calidad sensorial. La presencia de un elevado contenido en GIM se asocia con una mayor formación de compuestos volátiles y por tanto con un óptimo desarrollo del aroma y el flavor durante el procesado. Por otra parte, de los componentes del alimento que pueden influir en la liberación de los compuestos volátiles al espacio de cabeza, los lípidos son los que presentan un mayor efecto en la partición (reparto) de los compuestos volátiles entre el producto y la fase gaseosa (de Roos, 1997).

En los sistemas complejos, como es el caso de los productos que nos ocupan (producto cárnico curado íntegro), encontramos al menos tres fases diferenciadas: grasa, agua y aire. Los diferentes compuestos volátiles deben repartirse entre estas fases hasta alcanzar un equilibrio. Una vez alcanzado este equilibrio, la distribución del compuesto entre la fase grasa y la fase gaseosa viene determinada por el coeficiente de partición aceite-agua: $P_{ow} = C_o/C_w$, donde C_o y C_w son las concentraciones (en $g L^{-1}$) del compuesto en la grasa y en el agua respectivamente. Cuanto mayor sea el valor de este coeficiente mayor será el carácter lipofílico o hidrofóbico del compuesto, y por consiguiente en un medio con un elevado contenido graso tenderá a quedar retenido en la fase lipídica por lo que su liberación al espacio de cabeza estará más dificultada (de Roos, 1997). En la mayoría de los estudios donde se evalúan las características de los compuestos volátiles estudiados, la hidrofobicidad se mide mediante el $\log P_{ow}$ (coeficiente de partición octanol-agua). Valores de $\log P_{ow}$ negativos indicarían que el compuesto es muy hidrofílico, valores por debajo de 2 indicarían que el compuesto presenta una hidrofobicidad intermedia, mientras que valores por encima de 2 indicarían que el compuesto es claramente hidrofóbico (o lipofílico, con afinidad por tanto por la fase grasa) (Seuvre y cols., 2002).

En términos generales, la mayoría de los compuestos volátiles aromáticos presentan un carácter hidrofóbico, de forma que el incremento del contenido graso de la matriz del producto, al presentar una mayor afinidad por la fase lipídica, dificultaría la liberación de

estos compuestos hacia la fase gaseosa y por tanto disminuiría su concentración en el espacio de cabeza (de Roos, 1997).

Teniendo en cuenta los planteamientos anteriores, los objetivos del presente estudio fueron los siguientes. En primer lugar, estudiar el perfil de compuestos volátiles de lomos curados en un momento del procesado en el que las reacciones implicadas en la formación de los compuestos volátiles de importancia en la calidad sensorial del producto final se considera que se han desarrollado extensamente. En segundo lugar evaluar el efecto del contenido en GIM de los lomos en la dinámica de formación y liberación de los compuestos volátiles, teniendo en cuenta las propiedades tanto de la matriz del producto como las características de los compuestos volátiles estudiados. En tercer lugar, confirmar o no el desarrollo en la zona interna del lomo de reacciones secundarias de Maillard y de Strecker, como se había evidenciado en los sistemas modelo que incluían liposomas y/o aminoácidos (capítulo VI)

VII.2. MATERIAL Y MÉTODOS

VII.2.1. Procesado de los lomos y toma de muestras

Para la realización del presente estudio se consideraron 10 lomos procedentes de cerdos de raza Ibérica pura y criados en extensivo, en el sistema tradicional de “montanera” (lote IB-SR). Tras el sacrificio de los animales, se procesó la parte caudal del músculo *longissimus dorsi* (*l.dorsi*) como se describe en el diseño experimental (página 25).

VII.2.2. Diseño experimental

Para evaluar la dinámica de formación y subsiguiente liberación de compuestos volátiles durante la fase de secado-maduración de las piezas, así como la viabilidad del método de análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida (SPME) acoplado a un dispositivo de extracción directa (DED) en lomos curados, se realizaron dos extracciones sucesivas de compuestos volátiles mediante SPME-DED de 10 de los lomos del lote IB-SR procesados, en momentos diferentes de la fase de secado-maduración: días 40 y 55 de procesado. Trabajos previos realizados en jamón han puesto de manifiesto que al incrementarse la temperatura durante la etapa de secadero se activan la mayor parte de las reacciones químicas y bioquímicas de degradación y oxidación de lípidos que tienen como consecuencia la generación de la mayor parte de los compuestos volátiles con implicaciones tanto tecnológicas como aromáticas (Antequera y Martín., 2001; Ruiz y cols. 2002a; Andrés y cols, 2002). Por tanto, desde nuestro punto de vista, en esta etapa del procesado se entiende que las reacciones bioquímicas y químicas implicadas en la

formación de los compuestos volátiles se han desarrollado de una forma lo suficientemente intensa y durante un tiempo que estimamos lo suficientemente prolongado para evaluar la influencia de determinados factores, en concreto el contenido en GIM en la formación y liberación de estos compuestos.

Se consideraron 10 lomos seleccionados del lote IB-SR en función del contenido en GIM, obteniéndose dos grupos o lotes que presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el contenido en GIM: Bajo contenido en GIM ($n=6$) (% medio de contenido en GIM de 2.27 ± 0.72) y Alto contenido en GIM ($n=4$) (% medio de contenido en GIM de 6.77 ± 0.60), con el objetivo de evaluar la influencia del contenido graso (GIM) en la formación y en la dinámica de liberación de compuestos volátiles y su posterior extracción mediante SPME-DED y separación e identificación mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM).

VII.2.3. Extracción y cuantificación de la grasa intramuscular del músculo *l.dorsi*

La GIM se cuantificó en el músculo *l.dorsi* justo antes del procesado de las piezas de acuerdo con el método descrito por Bligh y Dyer (1959), tomando la muestra de la parte central de la pieza.

VII.2.4. Análisis de los compuestos volátiles mediante SPME-DED-CG-EM.

Para llevar a cabo la extracción de los compuestos volátiles de los lomos se utilizó el dispositivo de extracción directa (DED), al que se acopló una fibra de SPME dispuesta en un portafibras (Ruiz y cols., 2001), que se introdujo por presión en el interior del lomo a través de la superficie externa para evitar deteriorar la pieza (figura 1). La fase estacionaria de SPME utilizada fue la de carboxen-polidimetilsiloxano de 85 μm de grosor (Supelco Bellefonte, PA). Una vez que la sonda se dispone en el interior del producto se procede a la exposición de la fase estacionaria al espacio de cabeza que queda en el interior del dispositivo DED, de esta forma los compuestos volátiles difunden desde la matriz del producto al espacio de cabeza a través de los agujeros existentes en la superficie del DED y de aquí a la fase estacionaria como se muestra en el esquema de la figura 1. La extracción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 30 minutos. Una vez finalizado el tiempo de extracción, se recogió la fase estacionaria, y la fibra de SPME se transfirió de forma inmediata al puerto de inyección del cromatógrafo de gases (modo splitless, 280°C) para la desorción de los compuestos capturados por la fibra de SPME y su posterior separación, detección e identificación mediante CG-EM. Tras retirar el DED del lomo el pequeño orificio que quedaba en la superficie de la pieza se cubrió con manteca de cerdo, de forma que los lomos pudieron seguir el curso normal de procesado.

La separación de los compuestos volátiles se llevó a cabo en una columna cromatográfica capilar de sílice fundido con una fase estacionaria apolar de tipo HP-5 (5% fenil-Metil Silicona, Hewlett-Packard, 50m x 0.32 μm x 1.05 μm), operando a 6 psi de presión de cabeza de columna, resultando un flujo de 1.3 mL min^{-1} a 40°C. El programa del horno utilizado fue el siguiente: 40°C de temperatura de inicio durante 10 minutos, posterior subida hasta 200°C a razón de 5°C min^{-1} , nueva subida hasta 250°C a razón de 15°C min^{-1} , permaneciendo en isoterma a 250°C durante 10 minutos más (tiempo total de la carrera cromatográfica 55.33 minutos). La línea de transferencia del espectrómetro de masas se mantuvo a 280°C. El espectro de masas se obtuvo mediante impacto electrónico a 70 eV, con un electrón multiplicador voltio de 1756 V y la recogida de datos se realizó a una velocidad de 1scan s^{-1} en un rango de masas de 30 a 500 m/z.

Parte de los compuestos volátiles detectados fueron positivamente identificados comparando sus espectro de masas e índices de retención linear (índices de Kovats, IK) con los patrones de referencia (Sigma, St. Louis, USA) analizados en las mismas condiciones cromatográficas. El resto de los compuestos fueron tentativamente identificados, comparando sus espectros de masas con los existentes en la librería Wiley y en la base de datos del NIST (<http://webbook.nist.gov>), y por comparación de sus IK con los existentes en la bibliografía (Kondjoyan y Berdagué, 1996; NIST data base, <http://webbook.nist.gov>).

VII.2.5. Análisis estadístico

Para evaluar el efecto del tiempo de procesado (40 y 55 días) sobre las variables estudiadas (compuestos volátiles) se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) ($p < 0.05$) de medidas repetidas con el tiempo como factor inter-sujetos y utilizando como factor intra-sujeto el contenido en GIM de los lomos estudiados (alto y bajo). Para evaluar el efecto que el contenido en GIM tuvo sobre las variables estudiadas (compuestos volátiles), se realizó una t-student ($p < 0.05$) de comparación de medias en cada uno de los dos tiempos de procesado estudiados.

VII.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presenta la relación de los compuestos volátiles detectados y seleccionados con sus correspondientes áreas cromatográficas (expresadas en unidades arbitrarias de área, UAA x 10^6) analizados mediante SPME-DED en lomos de alto y bajo contenido en GIM a los 40 y 55 días de procesado. Se seleccionaron aquellos compuestos que fueron detectados en más de la mitad de los lomos evaluados de cada grupo (en 4 o más lomos en

el caso del grupo de bajo contenido en GIM (n=6) y en 3 o más lomos en el caso del grupo de alto contenido en GIM (n=4))

Fueron identificados 90 compuestos volátiles pertenecientes a 10 familias químicas diferentes: aldehídos (24), alcoholes (16), hidrocarburos (14), cetonas (13), ácidos (12), lactonas (2), furanos (2), compuestos nitrogenados (2), compuestos azufrados (1), terpenos (1) y compuestos clorados (1). Del total de compuestos detectados seis fueron coeluciones de 2 compuestos. El perfil de compuestos volátiles de los lomos estudiados coinciden con los descritos en estudios previos en jamones Ibéricos y paletas analizados mediante SPME-DED (Ruiz y cols., 2001; Andrés y cols., 2002; Ventanas y cols., 2003; Jurado, 2005).

De los compuestos identificados predominan los derivados de las reacciones de oxidación, coincidiendo con los resultados obtenidos por Jurado (2005) para los compuestos volátiles detectados en jamón Ibérico durante la fase de secadero. No obstante, es interesante destacar la detección de compuestos volátiles derivados de las reacciones de Maillard y de Strecker como el 2-metilpropanal y el 2 y 3-metilbutanal (así como sus correspondientes alcoholes y ácidos derivados), el metil disulfuro, el fenilacetaldehído y la 2,6-dimetilpiracina, todos ellos con destacables y agradables connotaciones aromáticas (Carrapiso y cols., 2002; Ruiz y cols., 2002a). La presencia de estos compuestos en lomos de 40 días de maduración donde las temperaturas de las cámaras de maduración no superaban los 15-16°C, indicaría que la formación de este tipo de compuestos podría tener lugar a temperatura ambiente, lo que confirmaría los resultados obtenidos descritos en el capítulo VI de la presente Tesis Doctoral, en sistemas modelo con liposomas durante un periodo de incubación de 30 días a 25°C. Dos factores concomitantes podrían haber favorecido el desarrollo de este tipo de reacciones en los lomos. Por una parte, un tiempo de procesado lo suficientemente prolongado habría permitido que se desarrollaran las reacciones químicas y bioquímicas que dan lugar a los compuestos precursores de las reacciones de Maillard y de Strecker. En este caso, dichos precursores corresponderían a aminoácidos y compuestos nitrogenados derivados principalmente de las reacciones de proteolisis y por otra parte, compuestos α -dicarbonilo que reaccionarían con dichos aminoácidos, como determinados compuestos derivados de la oxidación lipídica, aunque también pueden intervenir azúcares reductores provenientes de los nucleótidos (Ventanas y cols., 1992). En segundo lugar, la actividad de agua (a_w) del alimento. Las reacciones de Maillard presentan una velocidad de desarrollo óptimo a valores de a_w en torno a 0.75. Además, determinadas reacciones químicas como la condensación de Maillard esta favorecida en medios parcialmente deshidratados (Cheftel y Cheftel., 1976). En el caso de

los productos curados del cerdo Ibérico, para el jamón se han descrito valores de a_w en torno a 0.80-0.85 al final del procesado (Ventanas y Cava., 2001). Para los lomos, dada las características de la pieza constituida únicamente por tejido muscular y graso, podrían ser incluso inferiores lo que permitiría el desarrollo de este tipo de reacciones incluso de forma más rápida que en el jamón.

VII.3.1. Influencia del tiempo de procesado en el perfil de compuestos volátiles

En líneas generales el perfil de compuestos volátiles presentado por los lomos de 40 y 55 días de maduración fue muy similar. Además, la relación de compuestos que se presentan en la tabla 1 es muy parecida a la descrita para productos curados derivados de cerdos Ibéricos en las fases finales de procesado como lomos (Muriel y cols., 2004), jamones (García y cols., 1991; López y cols., 1992; Ruiz y cols., 1998) y paletas (Ventanas y cols., 2003). De los compuestos detectados, algunos han sido descritos como olor-activos en jamones Ibéricos y por tanto definirían el aroma de estos lomos de 40 y 55 días de maduración. Entre estos se incluirían compuestos con diferentes notas aromáticas derivados tanto de la oxidación lipídica como de las reacciones de Strecker: 2-metilpropanal (tostado, afrutado, pungente), 2,3-butanediona (dulce, a caramelo, a vainilla), 2 y 3-metilbutanal (ambos con notas aromáticas a rancio, almendras, tostado), 2-pentanona (hierba, afrutado, a frutas tropical), pentanal (a nueces, tostado y afrutado), hexanal (hierba, afrutado, a bellotas), 2-heptanona (a jamón curado, tostado, a nueces), heptanal (a jamón curado, tostado, grasa, afrutado) 2-heptenal (E) (almendras, afrutado, fritura) y 1-octen-3-ol (champiñones) (Carrapiso y cols., 2002). Por tanto, teniendo en cuenta el perfil aromático que presentan los lomos a 40 y 55 días de maduración, podría considerarse que los tiempos de maduración exigidos por la Norma de Calidad (para el lomo curado mínimo 80 días) podrían acortarse sin riesgo de perder calidad en el producto desde el punto de vista del flavor. En este sentido, las demandas actuales de las industrias productoras de derivados del cerdo Ibérico van encaminadas a solicitar una reducción del tiempo mínimo de procesado para los lomos curados (Ventanas, comunicación personal). De hecho, en el sector es práctica habitual el envasar al vacío los lomos con 55-60 días de procesado y almacenarlos hasta alcanzar los 80 días con el objetivo de cumplir las exigencias establecidas por la Norma de Calidad. Los resultados obtenidos en el presente estudio confirmarían que no son necesarios tiempos de procesado tan prolongados para obtener lomos Ibéricos que presenten un adecuado perfil aromático.

Las áreas cromatográficas (expresadas en UAA x 10⁶) de las principales familias químicas detectadas (aldehídos, hidrocarburos, alcoholes, cetonas y ácidos) en los lomos de bajo y alto contenido en GIM correspondientes a los dos tiempos de procesado estudiados (40 y 55 días) se presentan en la figura 2.

Los resultados de la figura 2 indicarían que para todas las familias químicas representadas, las áreas cromatográficas detectadas en el espacio de cabeza de los lomos aumentaron con el tiempo de procesado independientemente del contenido en GIM. Además, como se puede observar en la tabla 1, la mayor parte de los compuestos en los que el tiempo de procesado tuvo una influencia significativa ($p_{\text{tiempo}} < 0.05$) experimentaron un incremento de las áreas cromatográficas detectadas a los 55 días de procesado en comparación con las áreas detectadas a los 40 días de procesado. No obstante, muchos de los compuestos volátiles derivados de la oxidación lipídica como determinados aldehídos saturados (pentanal, hexanal, octanal y nonanal), aldehídos insaturados (como el 2-octenal (E), 2,4-heptadienal y el 2,4-decadienal) u otros compuestos como el 2-pentilfurano, no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en las áreas cromatográficas detectadas en función del momento del análisis (40 y 55 días de procesado).

En la figura 3 se muestra la evolución del área cromatográfica (expresada en UAA x 10⁶) obtenida para el total de compuestos volátiles descritos como derivados de la oxidación de las diferentes familias de ácidos grasos insaturados (n-3, n-6 y n-9) (Meynier y cols., 1999; Im y cols., 2004; Elmore y cols., 2005) así como los derivados de la degradación de Strecker de determinados aminoácidos (Pripris-Nicolau y cols., 2000; Ruiz y cols., 2002) para los lomos de bajo y alto contenido en GIM. Las áreas correspondientes a los compuestos derivados de la oxidación lipídica no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los dos tiempos de procesado estudiados, mientras que para los compuestos volátiles derivados de la degradación de Strecker las áreas detectadas fueron superiores a los 55 días de procesado con respecto a los 40 días, aunque esta tendencia únicamente se pudo confirmar estadísticamente para los lomos de bajo contenido en GIM. Además, el cociente calculado entre las áreas correspondientes a los compuesto derivados de la oxidación lipídica y las áreas de los compuestos derivados de las reacciones de Strecker aumentó con el tiempo de procesado en ambos grupos de lomos (alto y bajo), aunque este incremento fue más marcado en los de bajo contenido en GIM. En concreto, para los lomos de bajo contenido en GIM el cociente fue de 18.43 a los 40 días y de 11.47 a los 55 días. En el caso de los lomo de alto contenido en GIM el cociente fue de 17.32 a los 40 días y de 16.92 a los 55 días. Estos resultados coincidirían con los obtenidos para los sistemas

modelos estudiados en el capítulo VI donde ambas familias de compuestos siguieron una tendencia similar durante el periodo de incubación estudiado (30 días a 25°C). Además, este comportamiento ha sido descrito previamente por otros autores en jamones Ibéricos a lo largo del procesado (Ruiz y cols., 1999; Martín y cols., 2000; Jurado, 2005).

No obstante, hay que destacar que en el presente trabajo las temperaturas alcanzadas en las cámaras de maduración no superaron los 15-16°C, estando estos valores lejos de los que habitualmente se pueden llegar a presentar durante el procesado de un jamón Ibérico (hasta 25-30°C). Por tanto, aunque la temperatura sea un factor de gran importancia para el desarrollo de las reacciones implicadas en el flavor, los resultados obtenidos en el presente trabajo podrían indicar que dichos procesos químicos y bioquímicos se iniciarían una vez alcanzada una temperatura mínima y que posteriormente variaciones (principalmente incrementos) de dichas condiciones actuarían como moduladores de la intensidad en el desarrollo de esta tipo de reacciones. Además, habría que destacar que en los lomos están presentes determinados compuestos con importante actividad pro-oxidante, como el cloruro sódico o ciertos complejos metálicos que incluyen hierro, que favorecerían las reacciones de oxidación lipídica y en consecuencia la formación de precursores implicados en el desarrollo de reacciones de Maillard y de Strecker.

VII.3.2. Influencia del contenido en GIM en la detección de compuestos volátiles

El contenido en GIM podría influir sobre el perfil y la cantidad de compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza de los lomos desde tres puntos de vista diferentes. En primer lugar, el contenido graso podría tanto favorecer como frenar el desarrollo de determinadas reacciones químicas y bioquímicas implicadas en la formación de los compuestos volátiles. En segundo lugar, determinados compuestos volátiles con origen en la alimentación de los animales se depositan en el tejido graso, de forma que el contenido en GIM podría influir en dicha acumulación. Y por último, el contenido graso así como las características de los compuestos volátiles determinarán la liberación de los mismos al espacio de cabeza, ya sea al ambiente o a la cavidad bucal durante la masticación.

Como se observa en la figura 2, tanto el perfil como la cantidad de compuestos volátiles detectados presentaron diferencias en los lomos de alto y bajo contenido en GIM. Así, en el espacio de cabeza de los lomos de bajo contenido en GIM, a los 40 días de procesado, los compuestos volátiles mayoritarios fueron los aldehídos y las cetonas, y los minoritarios los ácidos. A los 55 días de procesado, los mayoritarios fueron los alcoholes y los aldehídos y los minoritarios siguieron siendo los ácidos. Por el contrario, en el espacio de

cabeza de los lomos de alto contenido en GIM destacaron los ácidos y los aldehídos a los 40 días de procesado y las cetonas a los 55 días, mientras que los compuestos volátiles que presentaron menores áreas cromatográficas fueron las cetonas a los 40 días y los hidrocarburos a los 55 días (figura 2). Además, teniendo en cuenta el área cromatográfica obtenida para la suma total de compuestos volátiles (tabla 1), se observó que los lomos de alto contenido en GIM presentaron mayores áreas totales que los lomos con bajo contenido en GIM, siendo significativa ($p < 0.001$) esta diferencia a los 55 días de procesado. Concretando por familias químicas, a los 40 días de procesado los lomos de alto contenido en GIM presentaron mayores áreas cromatográfica para las familias químicas de los ácidos y los aldehídos con respecto a los lomos de bajo contenido en GIM, aunque estas diferencias únicamente fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en el caso de los ácidos. Por el contrario, los lomos de bajo contenido en GIM presentaron significativamente ($p < 0.05$) mayores áreas cromatográficas que los lomos de alto contenido en GIM para la familia química de las cetonas. A los 55 días de procesado, destacan las familias químicas de los ácidos y de las cetonas cuyas áreas cromatográficas detectadas fueron significativamente ($p < 0.05$) superiores en los lomos de alto contenido en GIM, mientras que para los hidrocarburos las áreas detectadas fueron significativamente ($p < 0.05$) superiores en lomos de bajo contenido en GIM.

La mayor o menor presencia de un compuesto volátil en el espacio de cabeza de los lomos es consecuencia o bien de una mayor generación de este compuesto o bien de que su liberación y transferencia desde la matriz al ambiente este favorecida o bien de una acción combinada de ambos factores.

Como se ha indicado, en los lomos de alto contenido en GIM destacaron las familias químicas de los aldehídos, cetonas y los ácidos con cantidades superiores a las presentadas por los lomos de bajo contenido en GIM. Como puede observarse en la tabla 1, los aldehídos presentes en el espacio de cabeza de los lomos estudiados son principalmente aldehídos saturados (los mayoritarios), como el hexanal, octanal u nonanal, aldehídos insaturados como el 2-octenal (E), el 2-decenal (E) o el 2,4-decadienal, aldehídos ramificados como el 2 y el 3-metilbutanal o aldehídos aromáticos como el fenilacetaldehído. Para la familia química de las cetonas el efecto más destacado del contenido en GIM se presentó a los 55 días de procesado, puesto que los lomos de alto contenido en GIM presentaron un área cromatográfica ($2127 \text{ UAA} \times 10^6$) significativamente ($p < 0.05$) superior al presentado por los lomos de bajo contenido en GIM ($426 \times 10^6 \text{ UAA}$), principalmente como consecuencia de las cantidades detectadas

para la 2-propanona (tabla 1). La mayoría de las cetonas en las que el contenido en GIM influyó de forma significativa en las áreas cromatográficas detectadas, presentaron mayores áreas en los lomos de alto contenido en GIM que en los del bajo, entre las que destacarían por su abundancia la 2-propanona y la 3-hidroxi-2-butanona. Al igual que en el caso de las cetonas, las áreas cromatográficas para la familia química de los ácidos fueron significativamente ($p < 0.05$) superiores en los lomos de alto contenido en GIM, tanto a los 40 (316×10^6 UAA vs 128×10^6 UAA) como a los 55 días (592×10^6 UAA vs 277×10^6 UAA) de procesado.

La mayor parte de los compuestos volátiles incluidos en estas familias químicas derivan de reacciones de oxidación lipídica, de degradaciones de Strecker de determinados aminoácidos y algunos de ellos de la hidrólisis de triglicéridos y fosfolípidos, donde los lípidos y en especial los lípidos polares tienen una participación decisiva como precursores (Arnoldi y cols., 1987; Girard y Bucharles, 1991; Pripis-Nicolau y cols., 2000; Ruiz y cols., 2002a; Im y cols., 2004; Elmore y cols., 2005). En principio, cuanto mayor sea el contenido en GIM, mayor sustrato (lípidos) existirá para el desarrollo de este tipo de reacciones y en consecuencia la cantidad de compuestos volátiles generados como consecuencia de este tipo de reacciones será mayor. No obstante, de las diferentes fracciones lipídicas de la GIM, los fosfolípidos, al localizarse en las membranas celulares y presentar un alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados, constituirían uno de los precursores más importantes de estos compuestos volátiles debido a la mayor susceptibilidad a los fenómenos oxidativos en comparación con la fracción de lípidos neutros, principalmente triglicéridos (Igene y Pearson, 1979). Los lomos con un mayor contenido en GIM, que en el presente estudio corresponden a los del grupo de alto contenido en GIM, presentarán un mayor contenido en triglicéridos pero no en fosfolípidos, ya que estos son elementos estructurales y su contenido está en relación con el número total de fibras musculares. De hecho, un aumento en el contenido en GIM parece conducir a una menor susceptibilidad a la oxidación tal y como se describió en el capítulo II de la presente Tesis Doctoral. Por tanto, aunque el tiempo de procesado es prolongado y podría haber existido cierta oxidación de los lípidos neutros, la mayor cantidad de aldehídos, cetonas y ácidos así como de compuestos volátiles totales en los lomos de alto contenido en GIM seguramente no puede atribuirse exclusivamente a una mayor generación de estos compuestos consecuencia de un mayor contenido graso.

Existen una amplia variedad de factores que pueden influir en el mayor o menor desarrollo de este tipo de reacciones bioquímicas que tienen lugar durante el procesado, como son la

temperatura, el pH, la cantidad de oxígeno, la exposición a la luz, la a_w etc. Los 10 lomos considerados en el presente estudio fueron procesados en idénticas condiciones de forma que además del contenido en GIM el único factor de variación entre los lomos que pudo haber influido en el desarrollo de estas reacciones es el contenido en humedad y por consiguiente los valores de a_w . En este sentido los lomos de alto contenido en GIM experimentaron a lo largo de todo el procesado un porcentaje de mermas que fue siempre inferior al presentado por los lomos de bajo contenido en GIM. En concreto, a los 40 días de procesado el % de mermas de los lomos de alto contenido en GIM presentó unos valores de 28.8 ± 1.6 % mientras que para los de bajo contenido en GIM fue de 36.26 ± 2.5 . A los 52 días de procesado, el porcentaje de mermas fue de 38.78 ± 2.11 para los de alto contenido en GIM y de 42.25 ± 2.6 para los de bajo contenido en GIM. Como consecuencia de la menor pérdida de humedad por parte de los lomos de alto contenido en GIM, el desarrollo de reacciones de oxidación lipídica podría haber sido más intensa, puesto que el mayor contenido acuoso hace que los metales difundan más fácilmente hacia los lugares de oxidación, incrementándose de esta forma su actividad catalítica (Cheftel y Cheftel, 1976). De hecho, valores de a_w comprendidos entre 0.6 y 0.8 favorecen el desarrollo de las reacciones de oxidación lipídica (Christieans y cols., 2005)

Por otra parte, como se ha descrito con anterioridad, uno de los fenómenos que habría que considerar es la influencia del contenido graso sobre la dinámica de retención-liberación de los compuestos volátiles en la matriz del alimento. El contenido graso afecta a la liberación de los compuestos volátiles en función de las características químicas de los mismos (principalmente en relación a su carácter hidrofílico o lipofílico, definido por el valor $\log P_{ow}$), lo que determinará la distribución de dichos compuestos entre las diferentes fases: acuosa, grasa y gaseosa (espacio de cabeza), definida por los diferentes coeficientes de partición (de Roos, 1997). En este sentido, muchos de los compuestos volátiles detectados pertenecientes a la familia química de los aldehídos, algunos con características aromáticas destacables (como el 2 y 3-metilbutanal o el hexanal) son compuesto de bajo peso molecular, con valores de coeficientes de partición $\log P_{ow}$ (tabla 2) pequeños ($\log P$ menor de 2) y por tanto con escaso carácter lipofílico, lo que favorecerá su transferencia de la fase lipídica a la fase gaseosa (espacio de cabeza). De hecho, en la tabla 1 puede observarse como para la mayoría de los aldehídos seleccionados las áreas cromatográficas detectadas a los 40 días de procesado fueron superiores en los lomos de alto contenido en GIM con respecto a los de bajo contenido en GIM, aunque en muchos de los casos no fueron

diferencias estadísticamente significativas. Los resultados obtenidos en diferentes estudios científicos realizados tanto en alimentos como en sistemas modelo en los que se ha evaluado el efecto del contenido graso en la liberación de los aldehídos no muestran un efecto claro del contenido graso en la liberación de este tipo de compuestos. En este sentido, Jo y Ahn. (1999) describieron una reducción en la cantidad de compuestos volátiles detectados, entre los que se incluyen los aldehídos, en emulsiones con cantidades crecientes de grasa. Sin embargo, Chevance y Farmer (1999) estudiando la liberación de determinados compuestos aromáticos en salchichas con diferente contenido graso (5%, 12 % y 30%), no encontraron ningún efecto del nivel de grasa en la liberación de determinados aldehídos, a excepción del fenilacetaldehído cuyas áreas cromatográficas detectadas fueron superiores en las salchichas con menor porcentaje de grasa. Ingham y cols. (1996) y Piraprez y cols. (1998) observaron una mayor liberación de fenilacetaldehído y de aldehídos en general, en galletas y quesos de bajo contenido en grasa respectivamente, en comparación con los mismos productos con mayores niveles de grasa. Nuestros resultados no coincidirían totalmente con los descritos por estos autores para el fenilacetaldehído, pues a los 40 días de procesado las áreas cromatográficas detectadas para este compuesto fueron significativamente ($p < 0.05$) superiores en los lomos de alto contenido en GIM, lo que indicaría que o bien existió una mayor generación de este compuesto en los lomos de alto contenido en GIM, o bien el mayor contenido en grasa favoreció la liberación de este compuesto al espacio de cabeza. En este sentido, Seuver y cols. (2002) describieron un valor de $\log P_{ow}$ para el fenilacetaldehído de 1.5 y por tanto con cierto carácter polar y con escasa afinidad por la fase grasa, la que apoyaría el hecho de que en los lomos con mayor contenido en GIM se obtuvieran mayores áreas cromatográficas para este compuesto al estar favorecida liberación desde la matriz al espacio de cabeza.

El área cromatográfica obtenida para las cetonas detectadas en el espacio de cabeza de los lomos de alto contenido en GIM fue significativamente ($p < 0.05$) inferior a la de los lomos de bajo contenido en GIM a los 40 días de procesado (155×10^6 UAA vs 383155×10^6 UAA), mientras que a los 55 días el efecto observado fue el contrario (2127×10^6 UAA vs 426×10^6 UAA) (figura 2). Sin embargo, en este sentido hay que destacar que el considerable incremento en la cantidad de cetonas detectadas en los lomos de alto contenido en GIM a los 55 días se debe fundamentalmente a una cetona en concreto, la 2-propanona (tabla 1). Las áreas cromatográficas obtenidas para la 2-propanona y la 2-tridecanona fueron las que contribuyeron en mayor medida a las menores cantidades de

cetonas detectadas en los lomos de alto contenido en GIM a los 40 días de procesado. No obstante, a pesar del marcado carácter apolar de algunas de las cetonas detectadas, principalmente aquellas de más de 7 átomos de carbono ($\log P_{ow}$ superiores a 2, tabla 2), en el presente trabajo no se observó un descenso de la liberación de estos compuestos al espacio de cabeza y por consiguiente una disminución en la detección y en los valores de áreas cromatográficas obtenidos, en los lomos de alto contenido en GIM con respecto a los de bajo contenido. Más bien, no se observó ningún efecto como en el caso de la 2-nonanona o incluso el efecto observado fue el contrario como en el caso de la 2-decanona. Coincidiendo en parte con estos resultados, Chevance y Farmer (1999) apenas encontraron diferencias en las áreas cromatográficas obtenidas para una serie de cetonas detectadas en salchichas con diferente contenido graso. Igualmente, Jo y Ahn (1999), describieron que la volatilidad de las cetonas estuvo escasamente influida por las variaciones del contenido graso de las emulsiones estudiadas, en comparación con los resultados obtenidos para otras familias químicas de volátiles (hidrocarburos, aldehídos etc...). Sin embargo, otros autores como Seuvre y cols. (2000) observaron que pequeños incrementos del contenido graso (0.5% de miogliol) en sistemas modelo ocasionaban un descenso acusado de la volatilidad de la 2-nonanona. Probablemente, en el caso del presente trabajo y del estudio realizado por Chevance y Farmer (1999), al realizarse sobre productos cárnicos reales y no en sistemas modelo, serían necesarias diferencias más importantes del contenido graso para poder apreciar este efecto de “retención” del componente graso por compuestos de marcada hidrofobicidad como es el caso de determinadas cetonas (tabla 2). Sin embargo, habría que señalar que algunas cetonas de marcado carácter polar, en concreto la 2-butanona, presentaron mayores áreas cromatográficas en los lomos de alto contenido en GIM, lo que podría ser consecuencia de la escasa afinidad de este compuesto por la fase grasa y su mayor difusión al espacio de cabeza.

En los lomos de bajo contenido en GIM las áreas cromatográficas detectadas para las familias químicas de los hidrocarburos y de los alcoholes fueron superiores a las presentadas por los lomos de alto contenido en GIM, aunque dichas diferencias únicamente fueron estadísticamente significativas para los hidrocarburos a los 55 días de procesado (figura 2)

De los compuestos pertenecientes a la familia química de los hidrocarburos, únicamente 4 presentaron una influencia significativa ($p < 0.05$) del contenido en GIM de los lomos en las áreas cromatográficas detectadas para cada tiempo de procesado estudiado (40 y 55 días): el pentano, el p-xileno, el undecano y el 9-octadeceno (tabla 1). Las áreas cromatográficas

del p-xileno y el undecano fueron significativamente superiores ($p < 0.05$) en los lomos de mayor contenido en GIM, mientras que por el contrario las áreas detectadas para el pentano y el 9-octadeceno disminuyeron significativamente ($p < 0.05$) en los lomos de mayor contenido en GIM. Determinados hidrocarburos, como el hidrocarburo aromático p-xileno o hidrocarburos alifáticos de más de 10 átomos de carbono, se caracterizan porque su origen más probable estaría en la alimentación recibida por los animales y su presencia en los lomos se debería a su deposición directa en los tejidos grasos (Berdagué y cols., 1993; Ruiz y cols., 1999). La mayor acumulación de este tipo de compuestos en los lomos que presentan mayor contenido graso explicarían las mayores cantidades de por ejemplo p-xileno detectadas en los lomos de alto contenido en GIM. No obstante, habría igualmente que tener en cuenta las características de estos compuestos que presentan un marcado carácter apolar (Jo y Ahn., 1999) y por tanto liposolubles, por lo que tendrían una mayor afinidad por la fase grasa lo que podría haber dificultado la liberación al espacio de cabeza en los lomos con alto contenido en GIM de muchos de estos compuestos como se observa para el pentano, el 9-octadeceno y para la familia química de los hidrocarburos en general (figura 2). Otros compuestos volátiles de marcado carácter apolar, principalmente debido a la longitud de la cadena hidrocarbonada, como el 1-hexadecanol, el ácido nonanoico y el ácido dodecanoico presentaron igualmente significativamente ($p < 0.05$) menores áreas cromatográficas en los lomos de mayor contenido en GIM, lo que podría atribuirse a la mayor afinidad y por tanto “retención” por la fase grasa (tabla 1).

Las áreas cromatográficas obtenidas para la familia química de los alcoholes no presentaron diferencias significativas entre los lomos de diferente contenido en GIM (figura 2). No obstante, los resultados presentados en la tabla 1 muestran como las áreas cromatográficas detectadas para mucho de estos compuestos fueron superiores en los lomos de alto contenido en GIM con respecto a los de bajo contenido. En los lomos con un mayor contenido en GIM, aquellos alcoholes que presenten un escaso carácter lipofílico (mayor polaridad, $\log P$ menores o igual a 2, tabla 2) tenderían a transferir de la fase grasa a la fase gaseosa (de Roos., 1997), aumentando su concentración en el espacio de cabeza del DED empleado para la extracción de los compuestos volátiles. De hecho, en la tabla 1 puede observarse como el área cromatográfica obtenida para muchos de los alcoholes detectados y de importancia en el aroma como el 1-octen-3-ol, fueron superiores en los lomos de alto contenido en GIM con respecto a los de bajo contenido en GIM (diferencias significativas $p < 0.05$ a los 55 días de procesado). Además, habría que considerar que el origen de la mayoría de los alcoholes volátiles está en la oxidación de lípidos insaturados

(Forss, 1972), y teniendo en cuenta los resultados obtenidos para otros compuestos de origen similar como los aldehídos, parece que en los lomos de alto contenido en GIM este tipo de reacciones podría haber estado favorecida, no por el mayor contenido en GIM, que se traduce en un mayor contenido en triglicéridos y no en fosfolípidos, sino por otros factores como por ejemplo el contenido acuoso. Por otra parte, uno de los alcoholes que destacaron por su abundancia, tras el etanol, fue el 1-hexanol, principalmente en los lomos de alto contenido en GIM. Este compuesto, producto de la oxidación del ácido oleico (C18:1 n-9), se ha descrito en cantidades elevadas en jamones Ibéricos de montanera, debido al elevado contenido en este ácido graso en los depósitos grasos de los cerdos como consecuencia de la alimentación en montanera y el consumo de bellotas ricas en ácido oleico (C18:1 n-9). Los lomos del presente trabajo derivan de cerdos explotados en montanera y por tanto posiblemente con elevados niveles de ácido oleico. El mayor contenido en ácido oleico (C18:1 n-9) en los lomos de alto contenido en GIM, podría explicar las significativamente ($p < 0.05$) mayores áreas cromatográficas detectadas para el 1-hexanol en estos lomos (tabla 1) junto con el hecho de la escasa afinidad de este compuesto por la fase grasa ($\log P_{ow} < 2$, tabla 2) y por tanto su mayor liberación al espacio de cabeza de estos lomos. De hecho, parece que existe una relación directa y positiva entre el contenido en GIM y la proporción de ácido oleico (C18:1 n-9) (Ruiz y cols., 2000), por tanto en este caso si parece posible que en los lomos de alto contenido en GIM tuvo lugar una mayor formación de 1-hexanol.

Otros compuestos volátiles de interés presentes en el espacio de cabeza tanto de los lomos con alto como con bajo contenido en GIM, son la γ -butirolactona (en coelución con la 2,6-dimetilpiracina) y la γ -nonalactona derivadas, en los productos cárnicos curados, de la oxidación lipídica (Flores y cols., 1998). Coincidiendo con los resultados descritos por Chevance y col. (1999) para la γ -butirolactona en salchichas con diferente contenido graso, en el presente trabajo tampoco se encontró un efecto significativo del contenido en GIM de los lomos sobre las áreas detectadas para ambas lactonas, y por tanto parece que la liberación de estos compuestos no se vio influenciada por este parámetro. No obstante, teniendo en cuenta la polaridad de estos compuestos ($\log P_{o-w}$ de 1.32 para la γ -octalactona, tabla 2) podría haberse formado en mayor medida en los lomos de bajo contenido en GIM y como consecuencia de sus características químicas la retención en la matriz de estos lomos podría haber sido mayor que en los de alto contenido en GIM, disminuyendo su detección en el espacio de cabeza.

Gran parte de los estudios realizados, principalmente en sistemas modelos (Seuvre y cols., 2000; Philippe y cols., 2003), emulsiones y algunos en productos reales como queso (Piraprez y cols., 1997; le Than y cols., 1998) yogur (Braus y cols., 1999), salchichas (Chevance y Farmer., 1999) y patés (Estévez y cols., 2005), describen un efecto negativo del incremento en el contenido graso sobre la liberación de compuesto volátiles, principalmente sobre aquellos con un marcado carácter hidrofóbico (liposolubles), por lo que su concentración en el espacio de cabeza disminuiría a medida que aumenta el contenido graso. Aunque los resultados obtenidos en el presente trabajo pudieran contradecir, en parte esta teoría, habría que tener en cuenta que en la liberación de los compuestos volátiles influye tanto las características físico-químicas del compuesto (presión de vapor, volatilidad, $\log P_{ow}$ etc) como las propiedades estructurales de la matriz del alimento (Druaux y Voilley, 1997) a través de la cual el compuesto debe transferir hacia el espacio de cabeza, que en el caso de productos íntegros y desecados como los lomos tendrá una especial importancia. No obstante, Brauss y cols. (1999) en sistemas modelo que imitan yogures describieron como aquellos sistemas que presentaban un menor contenido graso liberaban los compuestos volátiles de una forma mucho más rápida e intensa al espacio de cabeza que yogures con un mayor contenido graso. Reducciones en el contenido graso se traducen en mayores y más rápidas pérdidas de los compuestos responsables del aroma a lo largo del procesado y del almacenamiento como consecuencia del incremento de la volatilidad de los compuestos en estos productos con bajo contenido graso (de Roos y Graf, 1995). Nuestros resultados podrían coincidir en parte con esta teoría, puesto que los lomos con menor contenido en GIM podrían haber liberado más rápidamente los compuestos volátiles que los de mayor contenido graso, donde su liberación habría tenido lugar de una forma más lenta y gradual. De esta forma al ser la liberación mas lenta la presencia de los compuestos volátiles en el espacio de cabeza de los lomos de alto contenido en GIM se prolonga en mayor medida en el tiempo y por tanto en el momento de los análisis se detectarían en mayor medida en estos lomos que en los que presentan menor contenido en GIM.

Otro de los factores a tener en cuenta es el estado físico de la grasa, que en el caso de los productos del cerdo Ibérico, como consecuencia de la composición en ácidos grasos (rica en ácido oleico (C18:1 n-9)) presenta un elevado grado de fluidez a temperatura ambiente (Ruiz y cols., 2000). La mayor parte de los estudios científicos en los que se evalúa la influencia del tipo de grasa en la dinámica de liberación de diferentes compuestos volátiles se han realizado en sistemas modelo con emulsiones que incluían diferentes tipos de

aceites vegetales (Guichard, 2002). Los resultados de estos estudios sugieren que los coeficientes de partición aceite/agua para la mayoría de los compuestos volátiles estudiados aumentan al aumentar el número de dobles enlaces de los ácidos grasos de los triglicéridos constituyentes de la fase grasa, de manera que cuanto más líquida es la fase grasa mayor es la retención de los compuestos en dicha fase. En un producto íntegro y real como el lomo, no sólo la composición en ácidos grasos de la grasa podría determinar una mayor retención de compuestos volátiles, sino que además la grasa al estar más fluida formaría una película en la superficie del producto que dificultaría físicamente la transferencia de los compuestos volátiles al espacio de cabeza, de forma que su liberación sería más gradual. Este efecto sería mayor cuanto mayor fuera el contenido en GIM de los lomos.

Por tanto podríamos decir que en los lomos de alto contenido en GIM, la posibilidad de que existiera una mayor formación de compuestos volátiles junto con una liberación mas gradual y lenta de dichos compuestos volátiles, podrían explicar la mayor cantidad de compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza de estos lomos mediante SPME-DED, incluidos aquellos con connotaciones aromáticas agradables. Este último aspecto podría haber contribuido a que los lomos de alto contenido en GIM presentaran unas características sensoriales en relación al flavor y a atributos de textura como la jugosidad superiores a los lomos de bajo contenido en GIM. Estos resultados apoyarían los obtenidos en el capítulo V de la presente Tesis Doctoral en el que consumidores mayores de 25 años mostraron una mayor preferencia por lomos de alto contenido en GIM, lo que podría estar relacionado con una mayor liberación durante la masticación de compuestos volátiles “retenidos” en la fase grasa.

VII.4. CONCLUSIONES

El perfil de compuestos volátiles obtenido para lomos de cerdos Ibéricos de montanera curados durante 40 y 55 días presenta unas características similares a los perfiles descritos en estudios anteriores para jamones Ibéricos en fases intermedias del procesado (secadero). Los resultados obtenidos indican que la generación y la dinámica de liberación de los compuestos volátiles en los lomos durante el procesado, esta influida tanto por las características de la matriz de los lomos, principalmente por el contenido y características físicas de la grasa intramuscular, así como por las características fisico-químicas de los compuestos volátiles en relación a su mayor o menor carácter hidrofóbico (o lipofílico).

Los lomos con un mayor contenido en GIM presentan una mayor abundancia de compuestos volátiles en general y de compuestos aromáticos en particular, detectados en el espacio de cabeza mediante SPME-DED, lo que indica que estos lomos probablemente presenten una mayor calidad sensorial en atributos relacionados con el flavor en comparación con los de bajo contenido en grasa intramuscular.

VII.5. REFERENCIAS

- Andrés A. I., Cava R. y Ruiz J. (2002). Monitoring volatile compounds during dry-cured ham ripening by solid-phase microextraction coupled to a new direct-extraction device. *Journal of Chromatography A*, 963, 83-88.
- Antequera T y Martín L. (2001). Reacciones químicas y bioquímicas que se desarrollan durante la maduración del jamón Ibérico (capítulo X). En: *Tecnología del jamón Ibérico.: de los sistemas tradicionales a la explotación racional del sabor y el aroma*. Ventanas J. (coordinador). Ed. Mundi-Prensa (Madrid, Barcelona, México), pp: 255-292
- Arnoldi A., Arnoldi C., Baldi O. y Griffini A. (1987). Strecker Degradation of Leucine and Valine in a Lipidic Model System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35, 1035-1038.
- Berdagué J.L., Bonnaud N., Rousset, S. y Touraille C. (1993). Influence of pig crossbreed on the composition volatile compound content and flavour of dry-cured ham. *Meat Science*, 34, 119-129.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
- Brauss M. S., Linforth R. S. T., Cayeux I., Harvey B. y Taylor A. J. Altering the fat content affects flavor release in a model yogurt system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2055-2059.
- Carrapiso A.I., Jurado A., Timón M. L. y García, C. (2002). Odor-Active Compounds of Iberian Hams with Different Aroma Characteristics *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6453-6458.
- Cheftel J.C. y Cheftel H. (1976). Pardeamiento no enzimático. En: *Introducción a la Bioquímica y tecnología de los alimentos*. Cheftel J.C. y Cheftel H (Editores). Editorial Acirbia, Zaragoza.
- Chevance F. D. V. y Farmer L. J. (1999). Release of volatile odor compounds from full-fat and reduced-fat Frankfurters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 5161-5168.
- Christean S., Genot C., Guillard A. S., Mjou D., Picgirard L. y Rossignol-Castera A.(2005). Viandes et produits carnés. Guide pratique por l'évaluation de l'oxydation des lipids.ACTIA (Association de Coordination Technique pour l'industrie Agro-alimentaire). Paris.
- De Roos K. B. y Graf E. (1995). Nonequilibrium partition model for predicting flavor retention in microwave and convection heated foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2204-2211.
- De Roos K. B. (1997). How lipids influence food flavor. En: *The Chemistry of Flavor interactions*. *Food Technology*, 51 (1), January, 60-62.
- Dubois C., Sergent M. y Voilley A. (1994). Flavoring of complex media: a model cheese example (chapter 19). En: *Flavor-Food interactions*. McGorrrin R.J. y Leland J.V. (editors). America Chemical Society, Washington D.C., pp: 218-226.

- Druaux C. y Voilley A. (1997). Effect of food composition nad microstructure on volatile flavour release. *Trends in Food Science and Technology*, 8 (November), 364-368.
- Elmore J.S., Cooper S.L., Enser M., Mottram D.S., Sinclair L.A., Wilkinson R.G. y Wood. (2005). Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb and meats and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Science*, 69, 233-242.
- Environmental Science-Interactive PhysProp database Demo (<http://www.syrres.com/esc/physdemo.htm>).
- Estévez M., Ventanas S. y Cava R. (2005). Physicochemical properties and oxidative stability of liver pâté as affected by fat content. *Food Chemistry*, 92, 449-457.
- Flores, M., Spanier A. M. y Toldrá F. (1998). Flavour analysis of dry-cured ham. En: *Flavour of meat, meat products and seafoods*. Shahidi. Ed: Chapman and Hall, Cornwall. Great Britain, pp 320-339.
- Forss, D.A. (1972). Odor and flavor compounds from lipids. *Prog. Chem. Fats Other lipids*, 13, 181-258.
- García C., Berdagué J.J., Antequera T., López-Bote C., Córdoba J.J. y Ventanas J. (1991). Volatile components of dry-cured Iberina ham. *Meat Science*, 41, 23-32.
- Girard J.P. y Bucharles C. (1991). La acidificación. En: *Tecnología de la carne y los productos cárnicos*. Girard J.P. Zaragoza, España: Acribia S.A.
- Guichard E. (2002). Interactions between flavor compounds and food ingredients and their influence on flavor perception. *Food Reviews International*, 18 (1), 49-70.
- Igene, J. O., & Pearson, A. M. (1979). Role of phospholipids and triglycerides in warmed-over-flavor development in meat model systems. *Journal of Food Science*, 44, 1285-1290.
- Ingham K.E., Taylor A. J., Chevance F. F. y Farmer L. J. (1996). Effect of fat content on volatile release from foods. En: *Flavour Science: Recent Developments, 8th Weurman Flavour Research Symposium*. Taylor A. J. y Mottram D. S. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, U. K., pp 386-391.
- Jo C. y Ahn D. U. (1999). Fat reduces volatiles production in oil emulsion system analyzed by purge-and-trap dynamic headspace /gas chromatography. *Journal of Food Science*, 64 (4), 641-643.
- Kondjoyan, N.y Berdagué, J. L. In *Compilation of Relative Retention Indices of the Analysis of Aromatic Compounds*. Publisher: Laboratoire Flaveur, station de recherches sur la viande, INRA; Theix, France.1996
- Le Than M., Goubet I., Le Quere J. L. y Voilley A. (1998). Interactions between volatiles and lipids in complex systems. *JAOCS*, 75 (1), J8489-1 J8489-5.
- Jurado, A. Evolución de compuestos relacionados con el sabor y el aroma del jamón Ibérico de distintas calidades durante su procesado. 2005. Tesis Doctoral.Universidad de Extremadura, España.
- López M.O., de la Hoz L., Cambero M. I., Gallardo E., Reglero G. y Ordoñez J.A. (1992) Volatile Compounds of dry hams from Iberian pigs. *Meat Science*, 31, 267-277.
- Martín L., Timón M. L., Petró M. J., Ventanas J. y Antequera T. (2000). Evolution of volatile aldehydes in Iberian ham matured under different processing conditions. *Meat Science*, 54, 333-337.
- Muriel E. 2003. Estudio comparativo de parámetros físico-químicos y sensoriales de lomo Ibérico. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura. España.
- Muriel E., Antequera T Petró M.J., Andrés A. AI. y Ruiz J.(2004) Volatile compounds in Iberian dry-cured loins. *Meat Science*, 68 (3), 391-400.

- Philippe E., Seuvre A.M., Colas B., Langendorf V., Schippa C. y Voilley A. (2003). Behavior of flavor compounds in model food systems: a Thermodynamic Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1393-1398.
- Pripis-Nicolau L., de Revel G., Bertrand. A. y Maujean A. (2000). Formation of Flavour Components by the Reaction of Amino Acid and Carbonyl Compounds in Mild Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3761-3766.
- Piraprez G., Hérent M-F. y Collin S. (1998). Flavour retention by lipids measured in a fresh cheese matrix. *Food Chemistry*, 61, 119-125.
- Ruiz J., Cava R., Ventanas J. y Jensen M.T. (1998). Headspace solid phase microextraction for the analysis of volatiles in a meat product. Dry-cured Iberian ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4688-4694.
- Ruiz J., Ventanas J., Cava R., Andrés A. I., y García C. (1999). Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process. *Meat Science*, 52, 19-27.
- Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Andrés, A. y García, C. (2000). Texture and appearance of dry-cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International*, 33, 91-95.
- Ruiz J., Ventanas J., Cava R. (2001). New Device for direct extraction of volatiles in solid samples using SPME. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5115.
- Ruiz, J.; Muriel, E.; Ventanas, J. The flavour of Iberian ham. (2002a). En *Research Advances in the Quality of Meat and Meat products*; Toldrá, F., Ed.; Research Singpost; Trivandrum Kerala, India,; pp 290-309.
- Ruiz J., García C., Muriel E., Andrés A. I. y Ventanas, J. (2002b). Influence of sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science*, 61, 347-354.
- Seuvre A. M., Espinosa Díaz M. A. y Voilley A. (2000). Influence of the food matrix structure on the retention of aroma compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4296-4300.
- Seuvre A. M., Espinosa Díaz M. A. y Voilley A. (2001). Retention of aroma compounds by β -lactoglobulin in different conditions. *Food Chemistry*, 77, 421-429.
- Seuvre A. M., Espinosa Díaz M. A. y Voilley A. (2002). Transfer of Aroma compounds through the Lipidic-Aqueous interface in a complex system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1106-1110.
- Ventanas J. y Cava R. (2001). Dinámica y control del proceso de secado del jamón Ibérico en secaderos y bodegas naturales y en cámaras climatizadas (capítulo IX). En: *Tecnología del jamón Ibérico.: de los sistemas tradicionales a la explotación racional del sabor y el aroma*. Ventanas J. (coordinador). Ed. Mundi-Prensa (Madrid, Barcelona, México), pp: 255-292.
- Ventanas S., Estévez M., Ventanas J. y Ruiz J. (2003). Análisis de los compuestos aromáticos de paletas Ibéricas mediante el empleo del dispositivo de “sonda de cala” (DED) acoplada a SPME. Proceedings II Congreso Mundial del Jamón, Cáceres, Marzo 2003.
- Ventanas, J., Córdoba J. J., Antequera T., García C., López-Bote C. y Asensio M.A. (1992) Hydrolysis and Maillard Reactions During Ripening of Iberian Ham. *Journal of Food Science*. 57, 803-815.

Tabla 1. Relación de compuestos volátiles seleccionados y sus correspondientes áreas cromatográficas (expresadas en UAA), extraídos mediante SPME-DED en lomos Ibéricos de 40 y 55 días de maduración con diferente contenido en GIM.

Compuestos (UAA x 10 ⁶)	IK	ID ¹	BAJO GIM			ALTO GIM			EEM	p(tiempo) ³	p(t*GIM) ⁴
			40 días	55 días	EEM ²	40 días	55 días	EEM			
Etanol	<500	EM	109.83	377.01	68.73	74.06	277.22	50.42	0.023	0.713	
2-propanona	<500	EM	64.02**	347.50***	68.13	28.93**	1915.00***	375.57	0.000	0.000	
Pentano	500	EM	54.54	47.07***	5.50	31.81	0.00***	6.36	0.044	0.176	
Metil disulfuro	534	EM + ki	0.0**	0.00	0.00	4.01**	6.20	0.78	0.013	0.013	
1-propanol + 2-metilpropanal	547	EM + ki	3.18	6.08	1.04	3.19	4.3	0.60	0.184	0.533	
Ácido acético	576	EM + ki	34.3	53.14	6.97	15.08	86.76	18.34	0.010	0.087	
2,3-butanodiona	584	EM + ki	0.00	72.08	1.19	42.22	59.4	13.35	0.249	0.490	
2-butanona	597	EM + ki	0.00***	6.99	1.28	3.49***	8.34	1.12	0.001	0.360	
Hexano	600	EM + ki	8.98	8.06	1.14	6.83	8.39	0.96	0.746	0.232	
Cloroformo	611	EM + ki	5.19	16.31	3.66	3.25	31.33	6.94	0.004	0.266	
2-metilpropanol	614	EM + ki	2.18	4.44	0.65	2.13	2.5	0.14	0.070	0.170	
3-metilbutanal	634	EM + KI	1.93	3.67	0.56	3.11	4.13	0.63	0.140	0.679	
2-metilbutanal	641	EM + ki	2.3	5.61	1.32	3.24	3.27	0.48	0.360	0.367	
1-metoxi-2-propanol	649	EM + ki	6.19	11.16	0.91	5.98	13.27	2.01	0.028	0.952	
1-penten-3-ol	656	EM + ki	0.00***	2.15	0.36	2.6***	2.79	0.11	0.001	0.004	
2-pentanona + ácido propanoico	660	EM + KI	20.37*	16.14	3.75	12.18*	27.47	3.25	0.270	0.070	
Pentanal	668	EM + KI	5.19	4.79	1.05	5.84	6.22	0.66	0.994	0.635	
Heptano	700	EM + ki	21.86	11.79	5.78	24.75	17.66	6.23	0.251	0.836	
3-hidroxi-2-butanona	709	EM + ki	7.78**	17.02**	1.54	12.98**	27.04**	3.01	0.000	0.148	
3-metil-1-butanol	736	EM + ki	2.27	4.7	0.64	3.69	5.17	0.65	0.037	0.564	
2-metil-1-butanol	740	EM + ki	0.89	2.67	0.45	1.31	1.95	0.19	0.029	0.241	
Ácido 2-metilpropanoico	753	EM + ki	2.47	3.56	0.44	2.96	4.34	0.69	0.131	0.847	
1-pentanol	767	EM + ki	3.6	4.07	0.71	2.36	7.17	1.04	0.001	0.003	
Metilbenceno (tolueno)	769	EM + ki	4.2	5.45	0.68	6.33	7.73	1.22	0.134	0.925	
Ácido butanoico	780	EM + ki	3.29*	3.71*	0.29	7.61*	13.28*	1.85	0.128	0.181	

2,3-butanodiol	787	EM + ki	2.49	3.33*	0.40	6.02	6.66*	0.90	0.518	0.929
Hexanal	797	EM + KI	42.52	42.54	6.89	74.79	91.2	19.81	0.534	0.535
Ácido 3-metilbutanoico	831	EM + ki	2.6	2.94	0.47	3.65	4.69	0.73	0.465	0.709
2-pentanona-4-hidroxi-4-metil-	839	EM + ki	1.89	14.8	2.39	2.33	16.6	3.00	0.000	0.767
1-hexanol	865	EM + ki	6.13	16.3*	1.73	12.61	32.08*	6.73	0.025	0.415
1,4-dimetilbenceno (p-xileno)	870	EM + ki	8.29*	2.93**	1.73	45.31*	55.28**	10.79	0.811	0.434
2-heptanona	886	EM + KI	4.09	3.47	0.62	6.27	5.69	0.79	0.543	0.983
Heptanal	896	EM + KI	31.21	36.47	5.64	46.14	50.01	7.09	0.471	0.910
γ-butirolactona + 2,6-dimetilpiracina	909	EM + ki	4.74	4.25	0.70	7.2	5.43	1.01	0.296	0.545
2-heptenal (E)	957	EM + KI	4.78	15.81	1.89	3.14	16.08	2.64	0.000	0.515
Heptanol + ácido hexanoico	969 y 970	EM + KI	32.02	20.51	4.57	43.68	32.03	6.52	0.156	0.993
1-octen-3-ol	980	EM + KI	10.53	8.17*	1.76	15.73	19.48*	2.33	0.815	0.317
2-pentilfurano	994	EM + ki	8.61	14.99	2.34	7.76	10.84	1.67	0.187	0.629
Decano	1000	EM + KI	6.34	5.9	0.80	6.24	8.16	1.13	0.489	0.281
Octanal	1005	EM + ki	33.05	47.07	5.62	49.63	57.35	6.02	0.053	0.531
2,4-heptadienal (E,E)	1014	EM + ki	3.74*	4.86	0.45	5.56*	5.5	0.35	0.356	0.305
Limoneno	1038	EM + ki	4.56**	0.00***	0.84	0.00**	2.88***	0.56	0.224	0.000
3-octen-2-ona	1042	EM + ki	2.23***	2.11***	0.12	6.26***	5.23***	0.36	0.153	0.249
Fenilacetaldéhid	1053	EM + KI	2.79**	4.32	0.56	4.66**	3.77	0.29	0.659	0.118
2-octenal-(E)	1062	EM + ki	16.72	21.31	3.43	28.99	25.17	4.36	0.905	0.225
Ácido heptanoico	1065	EM + ki	0.00***	4.6**	0.79	12.01***	8.52**	0.74	0.336	0.000
1-octanol	1071	EM + KI	12.08	9.54	2.31	17.76	19.39	2.73	0.743	0.288
2-nonanona	1094	EM + KI	3.28	3.25	0.30	3.93	4.7	0.70	0.563	0.535
Undecano	1000	EM + KI	5.28**	5.05*	0.52	0.00**	7.79*	1.51	0.001	0.000
Nonanal	1108	EM + ki	36.67	45.29	7.35	44.3	88.2	11.74	0.102	0.249
Benzenectanol	1126	EM + ki	2.93*	3.76	0.35	5.16*	4.75	0.36	0.673	0.232
2-ciclohexen-1-ona,3,5,5-trimetil	1138	EM	2.08***	3.88	0.38	6.76***	2.63	0.86	0.059	0.001
Ácido octanoico	1166	EM + ki	5.76***	4.95**	0.70	18.5***	11.7**	1.81	0.007	0.022
2-nonenal (E) + siloxano	1170	EM + ki	21.44	24.19**	3.10	46.6	57.73**	8.04	0.124	0.330
1,3-ciclohexanedione,5,5,-dimethyl	1176	EM	6.63	3.4	0.71	5.82	5.46	0.94	0.101	0.179
1-dodeceno	1199	EM + ki	4.41	6.68	1.19	4.13	4.14	0.54	0.415	0.417
Dodecano	1200	EM + KI	5.41	4.91	0.62	6.02	7.06	1.27	0.761	0.697
2-decanona	1201	EM + ki	2.62**	2.44***	0.18	4.35**	4.01***	0.10	0.297	0.752

2-heptilfurano	1205	EM	3.6	3.09	0.25	2.7	3.65	0.43	0.624	0.131
Decanal	1216	EM + ki	5.02	10.53	1.08	8.37	10.19	1.55	0.098	0.368
2,4-nonadienal (E,E)	1229	EM + ki	2.79**	3	0.26	0.00**	2.25	0.47	0.010	0.025
1,4-etil-3-metilfenol	1239	EM	2.65**	3.16	0.25	0.00**	3.8	0.78	0.001	0.003
2H-pirran,3,4-dihidro-6-metil-	1255	EM	3.46	4.4	0.37	4.46	3.19	0.82	0.816	0.140
1-metil-2-ciclopenten-1-ol	1260	EM	9.74	10.1	0.73	9.2	7.57	1.86	0.726	0.587
Ácido nonanoico	1267	EM + ki	4.64**	7.14	0.74	1.71**	6.21	0.97	0.005	0.306
2- decenal (E)	1275	EM + ki	52.72*	77	9.67	113.93*	91.55	16.43	0.950	0.151
Ciclohexanona, 3,3,5-trimetil	1285	EM	4.99	4.73	0.62	4.76	4.89	0.92	0.947	0.839
2,4-decadienal (E, Z)	1308	EM + ki	9.31	13.09	3.08	13.5	15.68	2.39	0.546	0.870
Undecanal	1318	EM + ki	7.37	7.63**	1.03	6.62	27.1**	4.79	0.002	0.002
2,4-decadienal (E,E)	1331	EM + ki	16.03	23.11	5.28	18.44	17.5	2.76	0.504	0.387
Ácido decanoico	1363	EM + ki	13.28	12.44	2.61	21.98	4.06	6.06	0.729	0.643
2-undecenal (E)	1374	EM + ki	55.93	50.63	13.03	89.97	14.89	20.07	0.822	0.993
γ -nonalactona	1379	EM + ki	4.65	6.55	0.66	4.4	5.4	0.88	0.070	0.732
1H-pirrol,2,5-dihidro	1387	EM	5.28	7.99*	0.81	5.49	4.79*	0.68	0.186	0.039
1- tetradeceno	1394	EM + ki	5.48	5.34	2.92	5.53	0.67	1.13	0.685	0.769
Tetradecano	1400	EM + ki	7.16	8.32	1.12	11.74	1.18	2.02	0.680	0.388
Dodecanal	1414	EM + ki	23.42	29.91	4.05	16.18	3.64	2.43	0.525	0.672
2,4-undecadienal (E, E)	1430	EM	5.5	10.28*	0.94	4.01	0.81*	0.80	0.001	0.391
1-dodecanol	1476	EM + ki	42.8	84.22	123.96	32.35	18.27	5.33	0.255	0.208
Fenol-(1,1-dimetiletil)-4-metoxi	1496	EM + ki	0.00**	0.00	0.00	4.58**	0.00	0.92	0.000	0.000
Pentadecano	1500	EM + KI	9.16	14.53	1.50	13.63	1.29	1.87	0.229	0.132
N,N-dimetil-dodecanamina	1509	EM + ki	472.35**	44.4*	84.59	0.00**	10.1*	0.00	0.012	0.012
Tridecanal	1518	EM + ki	10.51	20.34	3.45	8.85	3.83	0.95	0.139	0.561
Ácido dodecanoico	1557	EM + ki	0.00	61.69*	11.00	27.01	10.04*	2.30	0.009	0.002
1-hexadecanol	1577	EM	14.79	90.07*	12.81	13.22	12.45*	6.94	0.001	0.020
Tretradecanal	1611	EM + ki	14.06	26.77	2.83	11.78	4.88	6.93	0.004	0.236
9-octadeceno	1663	EM + ki	55.8	282.1*	45.10	31.94	47.52*	13.65	0.003	0.236
2-tridecanone	1680	EM + ki	273.01	0.00**	75.46	25.1	9.05**	7.80	0.178	0.108
Ácido tetradecanoico	1712	EM + ki	30.62	67.02	15.14	39.85	29.41	32.83	0.013	0.111
Ácido 9-hexadecanoico	1800	EM + ki	0.00*	35.4	5.61	122.78**	39.27	41.82	0.057	0.376
Σ TOTAL VOLÁTILES			1879.46	2398.38***	257.70	2954.98	4240.00***	505.76	0.010	0.513

¹ID: método de identificación. EM: espectro de masas coincide con los existentes en la librería Wiley; IK: el IK coincide con el estándar analizado en las mismas condiciones cromatográficas; ik: el espectro de masas y el IK coincide con los consultados en la base de datos del NIST y/o en la bibliografía consultada.

²EEM: error estándar de la media entre los lomos para cada tiempo de procesado (40 y 55 días).

³p (tiempo): nivel de significación resultado de la plicación del análisis estadístico de medidas repetidas para el factor tiempo (dos niveles, 40 y 55 días de procesado). ⁴p (t*GIM) nivel de significación resultado de la interacción del factor tiempo (t) y el factor intra-sujetos contenido en grasa intramuscular (GIM). Valores de $p < 0.05$ se considera estadísticamente significativos.

Nivel de significación (t-student): * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$) y *** ($p < 0.001$) que indica diferencias significativas para las variables estudiadas (compuestos volátiles) entre lomos de diferente contenido en grasa intramuscular (GIM) para cada tiempo de toma de muestras (40 y 55 días).

Tabla 2. Valores de hidrofobicidad (expresados como $\log P_{\text{octanol-agua}}$) de algunos de los compuestos volátiles mas representativos de las diferentes familias químicas detectadas en el espacio de cabeza de los lomos Ibéricos de montanera estudiados

Compuestos	Hidrofobicidad ($\log P_{ow}$)	REF ¹
2-butanona	0.29	Environmental Science
2,6-dimetilpiracina	0.54	Environmental Science
2-metilbutanal	1.23	Environmental Science
3 -metilbutanal	1.23	Environmental Science
γ -octalactona	1.32	Environmental Science
Fenilacetaldehído	1.50	Seuvre y cols. (2002)
1-pentanol	1.51	Environmental Science
Dimetildsulfuro	1.77	Environmental Science
Hexanal	1.78	Environmental Science
2-heptanona	1.98	Environmental Science
1-hexanol	2.03	Environmental Science
2-octanona	2.37	Environmental Science
1-octen-3-ol	2.50	Environmental Science
octanal	2.78	Environmental Science
nonanal	3.27	Environmental Science
2-nonanona	3.50	Seuvre y cols. (2002)

¹Consultar sección de referencias

Figura 1. Esquema del dispositivo de extracción directa (DED) y de la fibra de SPME.

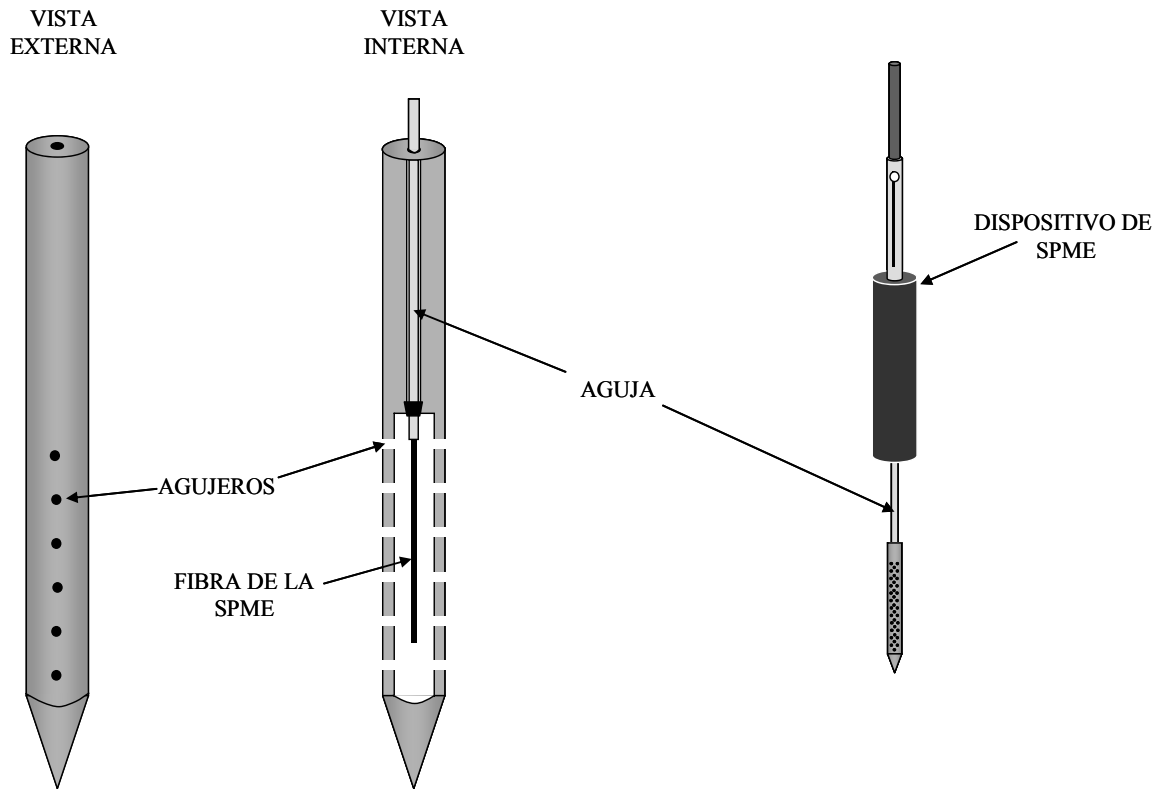
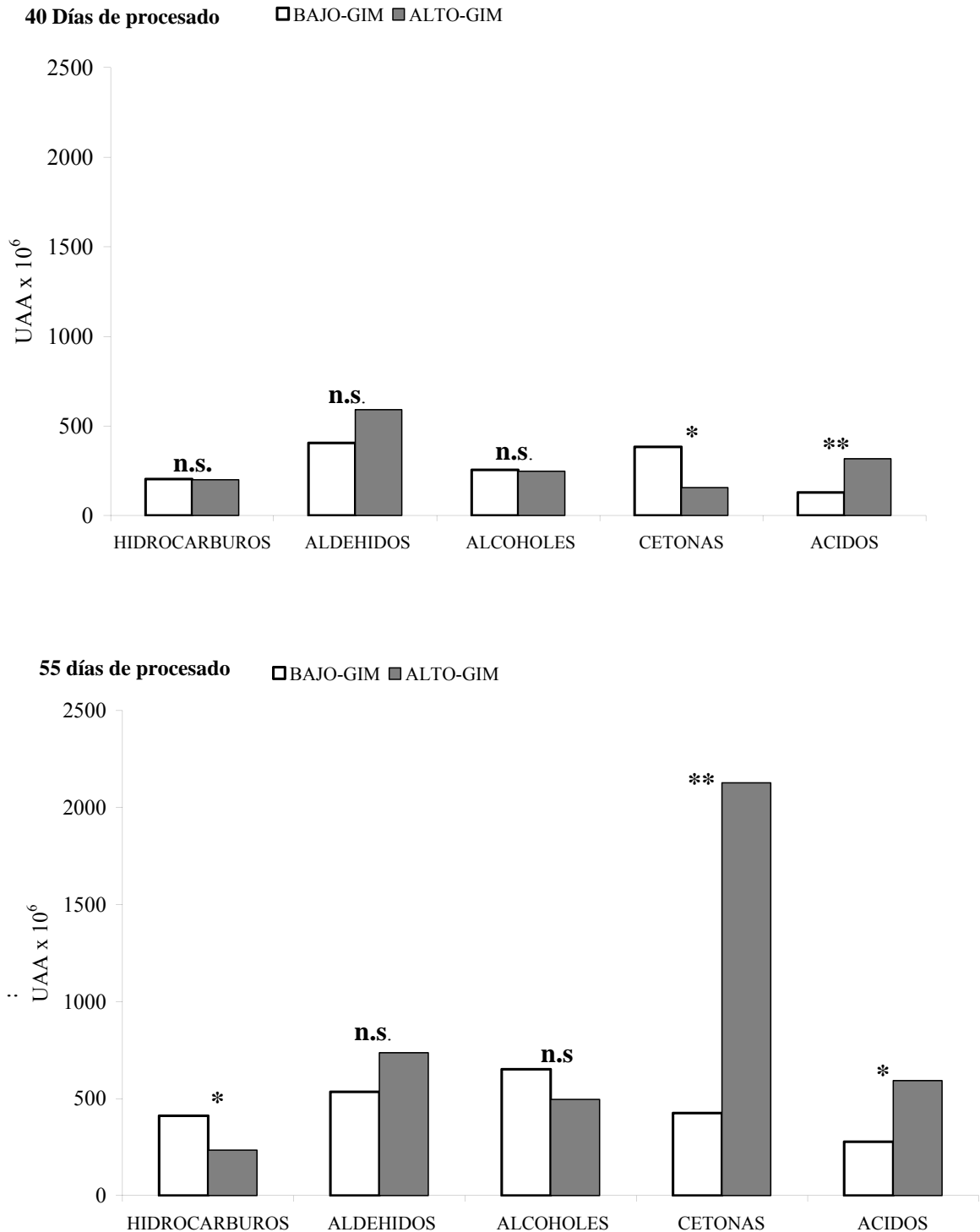


Figura 2. Diagramas de barras correspondientes a la abundancia total de las principales familias químicas, expresadas en UAA x 10⁶, a los 40 y 55 días de procesado en los lotes de lomos estudiados (BAJO y ALTO contenido en GIM).

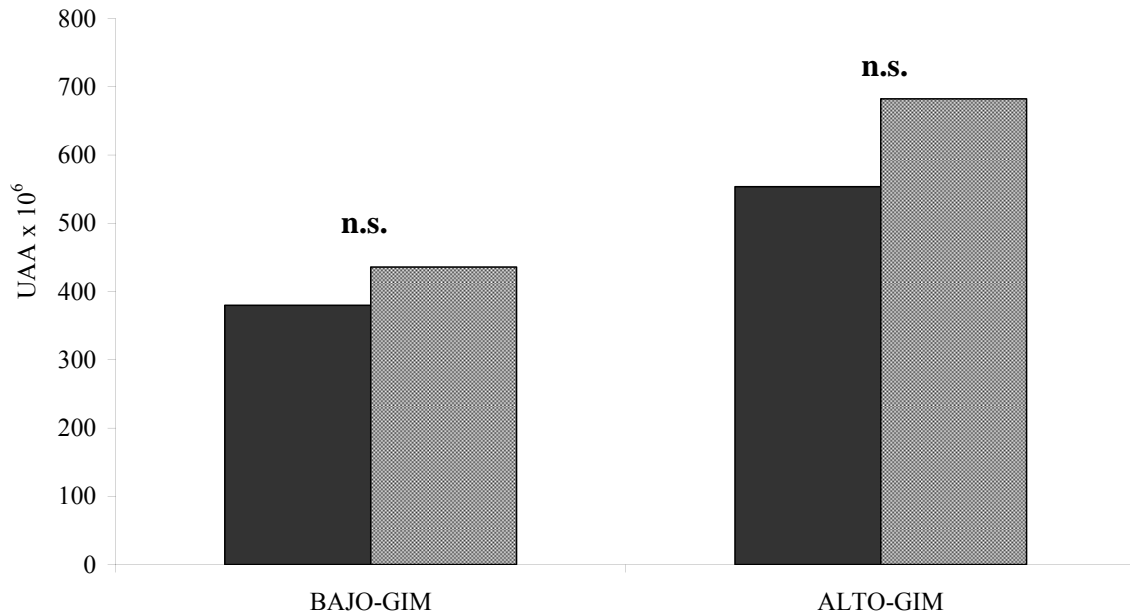


Nivel de significación: n.s :no significativo, * (significativo, p<0.05), ** (significativo p<0.01)

Figura 3. Diagrama de barras correspondiente a las áreas cromatográficas (expresadas en UAA) obtenidas para los compuestos volátiles derivados de la oxidación lipídica (figura 1a) y de las reacciones de Strecker (figura 1b) en lomos de bajo y alto contenido en grasa intramuscular (BAJO-GIM, ALTO-GIM) durante la etapa de secado-maduración (días 40 y 55 de procesado).

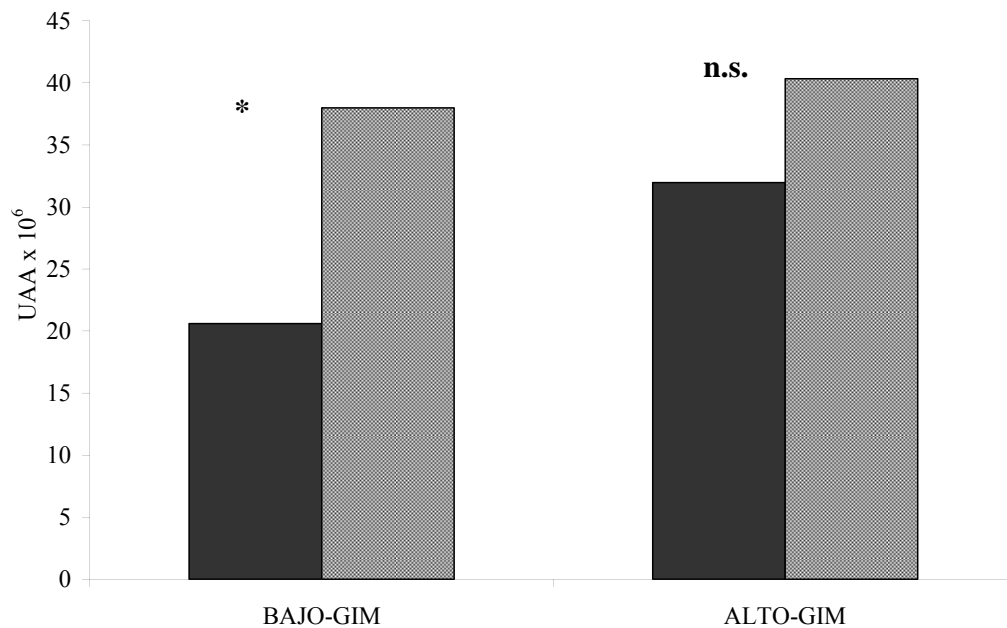
(3a)

Volátiles derivados de la oxidación lipídica ■ 40 días ▒ 55 días

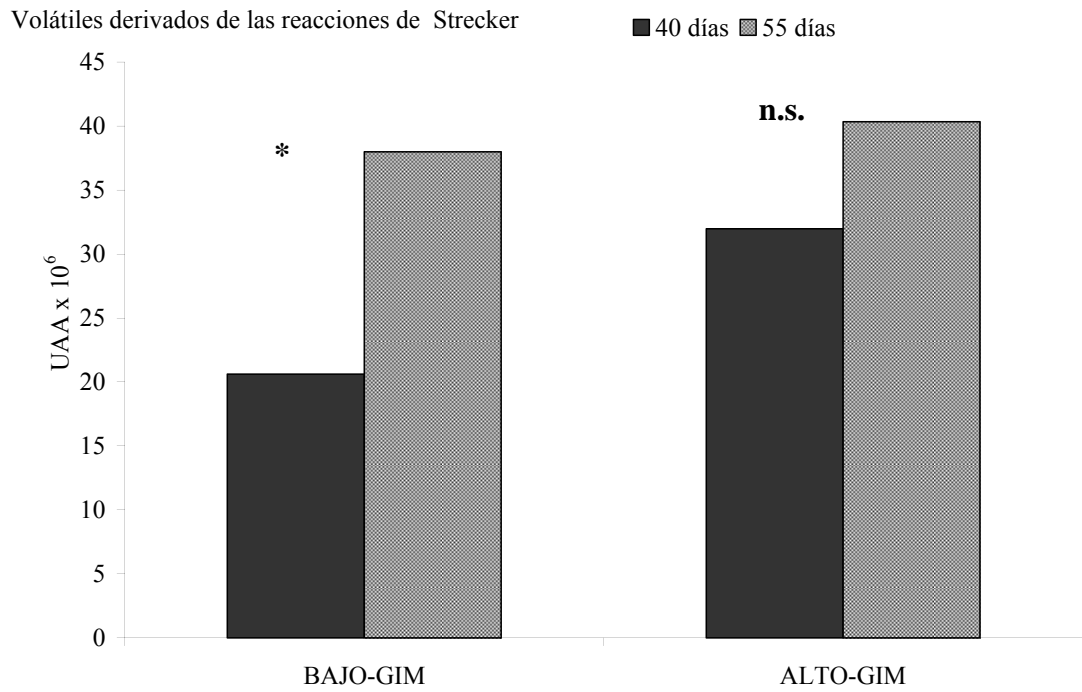


(3b)

Volátiles derivados de las reacciones de Strecker ■ 40 días ▒ 55 días



Nivel de significación (medida repetidas): n.s :no significativo, * (significativo, $p < 0.05$)



CAPÍTULO VIII

INFLUENCIA DE LA GENÉTICA Y DE LA ALIMENTACIÓN SOBRE EL PERFIL DE COMPUESTOS VOLÁTILES DEL LOMO CURADO DE CERDO IBÉRICO

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió el perfil de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida seguida de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) de lomos curados (101 días de procesado) procedentes de cerdos de diferente genética: Ibérico puro (IB), cruzado ♀Ibérico x ♂Duroc (IBxD), (50%) y cruzado ♀Duroc x ♂Ibérico, (50%) (DxIB), y alimentados en montanera (MON) o en intensivo con piensos enriquecidos en ácido oleico y suplementados con α -tocoferol (AOVE) o con piensos control (CON). Cuantitativamente la familia química de los hidrocarburos alifáticos fue la mayoritaria mientras que en lo relativo al número de compuestos destacó la familia química de los alcoholes, con 17 compuestos volátiles diferentes identificados. De los compuestos detectados predominaron los derivados de la oxidación lipídica que tuvieron representaciones en todas las familias químicas estudiadas. Entre éstos destacaron los aldehídos hexanal, pentanal u octanal, el alcohol 1-hexanol, las metil-cetonas, los ácidos o el 2-pentil furano. Además fueron detectados compuestos derivados de la degradación de Strecker de determinados aminoácidos (3-metilbutanal, benzaldehído o dimetildisulfuro) así como compuestos volátiles productos de las reacciones de Maillard (2,6-dimetilpiracina). El lote IBxD-AOVE fue el que presentó una mayor cantidad de compuestos volátiles totales expresado en Unidades Arbitrarias de Área (UAA). En los lomos derivados de cerdos explotados en montanera (IB-MON) destacaron compuestos volátiles posiblemente derivados de la alimentación (hidrocarburos aromáticos y compuestos terpénicos) así como compuestos derivados de la oxidación lipídica como el 1-hexanol o de las reacciones de Maillard como la 2,6-dimetilpiracina. La influencia del tipo de cruce se reflejó sobre las diferencias, principalmente cuantitativas, que fueron significativas ($p < 0.05$) para la cantidad total de compuestos volátiles en UAA, entre los lomos de los lotes IBxD-AOVE y DxIB-AOVE, mientras que se observaron escasas diferencias entre el lote de lomos de cerdos Ibéricos puros (IB-AOVE) y de cerdos cruzados (IBxD-AOVE y DxIB-AOVE).

Palabras Clave: Lomo Curado, Genética, Alimentación, Compuestos Volátiles, SPME.

VIII.1. INTRODUCCION

De los factores implicados en la calidad de los productos cárnicos curados, aquellos relacionados con el flavor del producto final parecen tener una importancia decisiva. De hecho, la intensidad del flavor en el jamón Ibérico es uno de los factores que determinan en

mayor medida la aceptabilidad de este producto por parte de los consumidores (Ruiz y cols., 2002a).

Un gran número de estudios realizados en jamón Ibérico y más recientemente en lomo curado Ibérico, han puesto de manifiesto la influencia de diferentes factores sobre el perfil aromático del producto final. Entre estos factores destacan el sistema de explotación (explotación en régimen extensivo frente a explotación en régimen intensivo), la alimentación recibida por los animales durante la etapa de cebo (alimentación basada en el consumo exclusivo de bellotas y hierba frente a alimentación basada en el consumo de piensos comerciales) (Lopez y cols., 1992; Carrapiso y cols., 2002a; Muriel y cols., 2004a; Jurado, 2005), el procesado (duración y características) (Ruiz y cols., 1999; Andrés y cols. 2002), la zona de toma de muestras (Muriel y cols., 2004b) e incluso el método de extracción (Ruiz y cols., 2002b). Las reacciones de proteólisis, lipólisis, oxidación de ácidos grasos y degradación de aminoácidos vía reacciones de Maillard y degradación de Strecker que tienen lugar durante el procesado, se consideran las principales rutas químicas y bioquímicas implicadas en la generación de los compuestos volátiles responsables del aroma característico del jamón Ibérico (Ruiz y cols., 2002b). Sin embargo, en estudios más recientes llevados a cabo en lomo Ibérico curado (Muriel y cols., 2004a), el perfil de compuestos volátiles de este producto presentó cierta similitud con el perfil de otros embutidos curados como chorizo o salchichón, a pesar de que el lomo, al igual que el jamón curado, constituye una pieza íntegra y por tanto cabría esperar un gran parecido en el perfil de compuestos volátiles de ambos productos. En este caso, los compuestos derivados de la presencia del ajo, de especias como el pimentón, y del metabolismo microbiano, fueron los mayoritarios en comparación con compuestos como el hexanal o el 3-metilbutanal derivados de la oxidación lipídica y de la degradación de Strecker respectivamente y que se han descrito como mayoritarios en jamón Ibérico (Ruiz y cols., 1999; Andrés y cols., 2002). No obstante, gran parte de estas reacciones químicas son reacciones secundarias donde los sustratos son productos de reacciones previas de oxidación y lipólisis y por tanto su desarrollo implica tiempos de maduración prolongados. Teniendo en cuenta que el tiempo de procesado del lomo es considerablemente más corto que el del jamón (3 meses en el caso del lomo y hasta más de 2 años en el caso del jamón Ibérico), este hecho puede contribuir a la aparición de diferencias en el perfil de compuestos volátiles entre ambos tipos de productos.

Jurado (2005) y Muriel y cols. (2004a) estudiaron el perfil de compuestos volátiles del jamón y del lomo curado respectivamente producidos a partir de cerdos alimentados con

piensos enriquecidos con ácido oleico en comparación con el perfil de jamones y lomos Ibéricos de montanera, encontrando en determinados compuestos diferencias que atribuyeron al sistema de alimentación. Por otra parte, la mayoría de los trabajos científicos existentes en los que se estudia el perfil de compuestos volátiles en carne y productos cárnicos procedentes de animales alimentados con piensos suplementados con α -tocoferol, se centran en compuestos derivados de la oxidación lipídica como el hexanal, el pentanal o el octanal con el objetivo de evaluar la efectividad de la presencia de este compuesto para frenar el desarrollo de los fenómenos oxidativos (Cava y cols., 2000; Descalzo y cols. 2005). Sin embargo, no se han realizado estudios en los que se evalúe el efecto de las dos estrategias conjuntamente, piensos enriquecidos con ácido oleico y suplementados con α -tocoferol, en el perfil de compuestos volátiles del jamón o del lomo curado.

Por otra parte, la actual Norma de Calidad (B.O.E., 2001) que regula el mercado de los productos derivados del cerdo Ibérico, exige que aquellos productos etiquetados como “Ibéricos” procedan de cerdos de raza Ibérica pura o bien de cerdos obtenidos a partir de cruces de Ibérico (♀) x Duroc (♂) al 50%, en los cuales la línea madre debe ser de raza Ibérica pura. Esta exigencia tiene como último objetivo la preservación del patrimonio genético y la biodiversidad que representa la raza Ibérica en pureza. Sin embargo, se dispone de escasa información y trabajos científicos en los que se exponga la influencia real de la utilización como línea materna de la raza Ibérica pura (exigido por la Norma de Calidad) o la raza Duroc en el cruce de Ibérico x Duroc al 50% sobre parámetros que determinan la calidad final del producto como son el aroma y el perfil de compuestos volátiles.

En los capítulos precedentes de esta Tesis Doctoral se ha descrito la influencia tanto de la genética como de la alimentación sobre diferentes parámetros relacionados con la calidad de la materia prima (composición en ácidos grasos, fenómenos de oxidación) y del producto (atributos sensoriales y preferencia por los consumidores). Por tanto sería de interés evaluar si estas diferencias tienen repercusión en el perfil de compuestos volátiles implicados en la calidad sensorial del lomo curado de cerdo Ibérico.

El objetivo que se planteó en el presente trabajo fue establecer el perfil de compuestos volátiles del lomo curado, evaluando la influencia que sobre este perfil tiene la alimentación recibida por los animales durante la fase de cebo (en intensivo con piensos enriquecidos con girasol alto oleico y α -tocoferol o en extensivo en régimen de montanera)

y la genética de los mismos (raza Ibérica pura o cerdos cruzados Iberico x Duroc (50%) de madre Ibérica pura o madre Duroc).

VIII.2. MATERIAL Y MÉTODOS

VIII.2.1. Procesado de los lomos

En la realización del presente estudio se consideraron 40 lomos curados pertenecientes a 5 lotes diferentes (8 lomos por lote) en función de la raza de los cerdos y del sistema de explotación de los animales durante la fase de cebo (60 días) (consultar diseño experimental): lote IBxD-CON, IBxD-AOVE, DxIB-AOVE, IB-AOVE e IB-MON. Tras el sacrificio de los animales, se procesó la parte caudal del músculo *l.dorsi* (diseño experimental). Tras una primera etapa de salado en bombo, los lomos permanecieron 4 días en cámaras a 4°C para conseguir una adecuada penetración de la mezcla hacia el interior del producto. Al término de este período las piezas se embutieron en tripas artificiales de colágeno y se mantuvieron a refrigeración durante 30-35 días adicionales. Durante la fase de salado-adobo de las piezas no se incluyó pimentón, ajo, aceite ni otro tipo de condimentos o especias que se emplean habitualmente en el procesado del lomo embuchado, con el objeto de evitar la formación de compuestos volátiles derivados de la presencia de estas sustancias. La mezcla empleada para el salado de las piezas incluía únicamente cloruro sódico (2.5%), agua (1%), azúcar (0.7%) y nitrato potásico (150 ppm). Por último, la etapa de secado-maduración tuvo lugar en secaderos pilotos, en la Unidad de Tecnología de los Alimentos del Departamento de Zootecnia de la Universidad de Extremadura durante un periodo de 60 días más con unas condiciones termo higrométricas controladas (4-16 °C y 65-75% de humedad relativa). Un vez finalizado el tiempo de procesado, se tomó una pequeña muestra de 7-9 gramos de la zona central de cada uno de los lomos procesados, se almacenó a congelación (-80°C) hasta el momento de realizar el análisis de los compuestos volátiles mediante SPME, así como otros análisis relacionados con la composición físico-química.

VIII.2.2. Análisis de los compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en el espacio de cabeza (SPME-EC) acoplada a cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM)

El análisis de los compuestos volátiles de los lomos curados se llevó a cabo mediante extracción con SPME y análisis mediante cromatografía de gases (CG-EM) (gas chromatograph Hewlett-Packard 5890 series II) y espectrometría de masas (Hewlett-Packard HP-5791 A). Se partió de 1 gramo de muestra congelada y picada que se dispuso

en un vial de vidrio para SPME de 4 ml de volumen, sellado con tapón de plástico y septum de teflón-silicona. Se utilizó una fibra de SPME con la fase estacionaria de carboxen/polidimetilsiloxano de 85 μm de espesor acoplada a un portafibras manual (Supelco Co., Bellefonte, PA). Para llevar a cabo la extracción, una vez activada la fibra y tras el acondicionamiento de la muestra (durante 15 minutos a 37 °C), se insertó la fibra de SPME a través del septum del vial y se expuso la fase estacionaria en el espacio de cabeza con unas condiciones de extracción de 30 minutos a 37°C. La extracción se llevo a cabo en un baño termostaticado. Una vez finalizado el tiempo de extracción la fibra de SPME se transfirió de forma inmediata al puerto de inyección del cromatógrafo de gases (modo splitless, 280°C) para la desorción de los analitos y la posterior separación, detección e identificación de los compuestos capturados por la fibra de SPME mediante CG-EM.

La separación de los compuestos volátiles se llevó a cabo con una columna cromatográfica capilar de sílice fundido con una fase estacionaria apolar de tipo HP-5 (5% Fenil-Metil Silicona, Hewlett-Packard, 50m x 0.32 μm x 1.05 μm), operando a 6 psi de presión de cabeza de columna y resultando un flujo de 1.3 mL min^{-1} a 40°C. El programa del horno utilizado fue el siguiente: 40°C de temperatura de inicio durante 10 minutos, posterior subida hasta 200°C a razón de 5°C min^{-1} , nueva subida hasta 250°C a razón de 15°C min^{-1} , permaneciendo en isoterma a 250°C durante 10 minutos más (tiempo total de la carrera cromatográfica 55.33 minutos). La línea de transferencia del espectrómetro de masas se mantuvo a 280°C. El espectro de masas se obtuvo mediante impacto electrónico a 70 eV, con un electrón multiplicador voltio de 1756 V y la recogida de datos se realizó a una velocidad de 1scan/s en un rango de masas de 30 a 500 m/z.

Parte de los compuestos volátiles detectados fueron positivamente identificados comparando sus espectro de masas e índices de retención lineal (índices de Kovats, IK) con los patrones de referencia (Sigma, St. Louis, USA) analizados en las mismas condiciones cromatográficas. El resto de los compuestos fueron tentativamente identificados, comparando sus espectros de masas con los existentes en la librería Wiley y en la base de datos del NIST (<http://webbook.nist.gov>), y por comparación de sus IK con los existentes en la bibliografía (Kondjoyan y Berdagué, 1996; NIST).

VIII.2.3. Análisis estadístico.

Se llevó a cabo un Análisis de la Varianza (ANOVA) para el factor lote usando el paquete estadístico SPSS software (v. 12.0) (1997). Se realizó el Test de Tukey's de comparación de medias para aquellas variables (compuestos volátiles) que presentaron diferencias significativas tras el ANOVA, estableciéndose un nivel de significación $p < 0.05$.

VIII.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se muestran los cromatogramas correspondientes a la extracción mediante EC-SPME de cada uno de los lotes en estudio. En la tabla 1 se presenta la relación de los compuestos volátiles detectados e identificados así como las áreas cromatográficas (en UAA x 10⁶) en los 5 lotes estudiados. En el sumatorio total de compuestos volátiles no se incluyeron las áreas correspondientes al cloroformo y al hexano por considerarse contaminantes. Se identificaron un total de 71 compuestos volátiles pertenecientes a las siguientes familias químicas: alcoholes (17), aldehídos (11), cetonas (10), hidrocarburos alifáticos (9), ésteres (6), terpenos (3), compuestos azufrados (3), compuestos nitrogenados (2), furanos (2) y compuestos clorados (2). Del total de compuestos detectados 12 fueron coeluciones de 2 compuestos.

En la figura 2 se presentan el porcentaje de área relativa al área total para cada una de las familias químicas detectadas en cada uno de los 5 lotes estudiados. Los compuestos volátiles pertenecientes a la familia química de los alcoholes fueron los mayoritarios, con 17 compuestos volátiles diferentes identificados. Cuantitativamente (figura 2), la familia de los hidrocarburos alifáticos fue la que presentó una mayor % de área cromatográfica en todos los lotes estudiados a excepción del lote DxIB-AOVE donde los alcoholes presentaron el % de área mayoritario. Del resto de familias, destacan los aldehídos que supusieron más del 18% del total del área cromatográfica en todos los lotes, así como los alcoholes y los ácidos que superaron el 15 % y el 8 % respectivamente del área total en todos los lotes. Las cetonas ocuparon una posición intermedia al representar entre un 3.30% y un 6.24% del área cromatográfica total dependiendo del lote estudiado. El resto de familias químicas pueden considerarse desde el punto de vista cuantitativo como compuestos minoritarios, ya que no superaron en ningún caso el 2% del área total.

Individualmente, los compuestos volátiles más abundantes fueron el etanol, el pentano, el hexano, el ácido acético, el heptano, el cloroformo y el hexanal (tabla 1).

El lote IBxD-AOVE fue el que presentó una mayor cantidad total de compuestos volátiles (1810.65 x 10⁶ UAA), mientras que el lote DxIB-AOVE fue en el que se detectó una menor cantidad de compuestos volátiles totales (1052.60 x 10⁶ UAA), siendo además la diferencia en el sumatorio de volátiles entre ambos lotes estadísticamente significativa (p<0.05). Por tanto estos resultados indicarían que el tipo de cruce empleado (de madre Ibérica o de madre Duroc) influyó en la cantidad total de volátiles detectados. Sin embargo, estos resultados no coincidirían con la tendencia general observada en los diferentes estudios llevados a cabo en la presente Tesis Doctoral en los que el tipo de cruce

(madre Ibérica vs madre Duroc) no influyó sobre parámetros como el contenido y composición en ácidos grasos de la GIM (capítulos I y III), la susceptibilidad a la oxidación (capítulo II) o los atributos sensoriales relacionados con el aroma y el flavor de los lomos curados (capítulo IV), que fueron además los mismos lomos analizados en el presente capítulo.

De los 71 compuestos identificados, 62 presentaron diferencias significativas entre los lotes estudiados ($p < 0.05$). No todos los compuestos fueron detectados en todos los lotes. Entre éstos, cabe destacar el metildisulfuro que únicamente fue detectado en el espacio de cabeza de los lomos procesados a partir de cerdos Ibéricos puros explotados en montanera (lote IB-MON).

Los hidrocarburos alifáticos representaron entre el 23.66% y el 42.00% del área cromatográfica total de los compuestos volátiles detectados dependiendo del lote en estudio (figura 2). Los lotes DxIB-AOVE y el lote de lomos de montanera (IB-MON) presentaron porcentajes de área significativamente ($p < 0.05$) inferiores al del resto de los lotes estudiados. De los 9 identificados, 5 fueron lineales y 4 ramificados (tabla 1). Estos resultados coinciden en términos generales con los perfiles descritos previamente por otros autores tanto en jamón (García y cols., 1991; Timón y cols., 1998; Andrés y cols., 2002; Ruiz y cols., 1998, Ruiz y cols., 1999) como en lomo (Muriel y cols., 2004b). Dentro de este grupo, los hidrocarburos de cadena sencilla y con menos de 10 átomos de carbono procedentes de la oxidación lipídica (Shahidi y cols., 1986; Ruiz y cols., 2000b) como el pentano, el hexano y el heptano fueron los más abundantes. No obstante, la presencia del hexano se considera principalmente derivada de la contaminación del laboratorio. En términos generales, debido al elevado umbral de olfacción de la mayoría de estos compuestos, su contribución al aroma global de los productos cárnicos parece ser escaso (Min y cols., 1977). No obstante, la presencia de hidrocarburos ramificados como el 2 y el 3-metilpentano, un alcano ramificado no identificado (IK: 1025) y el 2-metildecano, así como del hidrocarburo insaturado 1-hepteno, pueden haber contribuido con determinadas notas aromáticas al aroma final de los lomos, ya que la presencia tanto de insaturaciones (Forss, 1972) como de radicales metilo o etilo disminuyen el umbral de olfacción de este tipo de compuestos (Ruiz y col., 2002b). Todos los hidrocarburos alifáticos descritos a excepción del 2-metilpentano presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los cinco lotes estudiados.

De los hidrocarburos lineales cabe destacar que para el decano, las áreas cromatográficas obtenidas en los lomos procedentes del lote de cerdos de raza Ibérica pura explotados en

montanera (IB-MON) fueron superiores al de resto de lotes. Dichas diferencias fueron significativas ($p < 0.05$) con todos los lotes menos con el lote IBxD-AOVE. Por otra parte, no existieron diferencias significativas entre las áreas cromatográficas del decano obtenidas para los lomos procedentes de los cerdos alimentados con piensos AOVE (lotes IBxD-AOVE, IB-AOVE y DxIB-AOVE). Sin embargo el lote IBxD-CON presentó unos valores de este compuesto significativamente ($p < 0.05$) inferiores al que se obtuvieron para los lomos de cerdo de igual genética pero alimentados con los piensos AOVE (lote IBxD-AOVE).

Los superiores niveles del hidrocarburo decano en el espacio de cabeza de los lomos del lote IB-MON con respecto a los lomos del resto de lotes coinciden con los obtenidos previamente por Muriel (2003), que detectó niveles 15 veces superiores de este hidrocarburo en lomos curados procedentes de cerdos criados en montanera respecto a los de pienso, estableciendo un posible efecto de la alimentación en la presencia de este compuesto. Los hidrocarburos de 10 o más átomos de carbono, como el caso del decano, parecen tener su origen en la acumulación en los tejidos grasos del animal, probablemente procedentes de la alimentación recibida por los animales durante la fase de cebo (Meynier y cols. 1999; Ruiz y cols., 2002b). Aunque este compuesto no contribuya sustancialmente al aroma del producto su presencia podría indicar que el animal ha sido explotado en régimen de montanera, actuando como un posible marcador de la alimentación al igual que otros hidrocarburos como el neofitadieno (Tejeda y cols., 2001).

En relación a aquellos hidrocarburos ramificados e insaturados, que pudieran haber contribuido al aroma final de los lomos, se observó una tendencia general ($p < 0.1$ para todos los compuestos) a presentar menores áreas cromatográficas de estos compuestos en los cromatogramas correspondientes a los lomos del lote IB-MON con respecto a los lomos procedentes de los lotes AOVE (IBxD, IB y DxIB), aunque las diferencias no siempre fueron estadísticamente significativas. Estos resultados contradicen en parte los descritos por Tejeda y cols. (2001) así como los obtenidos en capítulos precedentes de esta Tesis Doctoral (capítulo I) en relación a la presencia destacada del hidrocarburo ramificado neofitadieno en los lomos de cerdos de montanera (lote IB-MON). No obstante, hay que recordar que igualmente los piensos compuestos están constituidos por diferentes ingredientes vegetales, que seguramente contengan en su composición diferentes hidrocarburos, que igualmente pueden acumularse en los tejidos grasos del animal.

Los hidrocarburos aromáticos constituyeron entre el 1.03 % y el 1.96% del total del área cromatográfica, siendo en el lote IB-MON donde se obtuvieron significativamente

($p < 0.05$) los porcentajes más elevados en relación al resto de los lotes estudiados (figura 2). Los tres hidrocarburos aromáticos identificados: tolueno en coelución con el 1-pentanol, etilbenceno y p-xileno, han sido previamente detectados por otros autores en una amplia variedad de productos cárnicos (López y cols., 1992; Meynier y cols., 1999; Ruiz y cols., 1998; Timón y cols., 1998, Ansorena y cols., 2001; Muriel y cols., 2004a, García-Esteban y cols., 2004). Ansorena y cols. (2001) atribuyeron la presencia de este tipo de compuestos en chorizo al proceso de ahumado, mientras que otros autores establecen que en jamón curado el origen podría estar en la alimentación recibida por los animales y en concreto en la presencia de estos compuestos en la hierba y su posterior acumulación en los depósitos grasos animales tras la ingesta (Berdagué y cols., 1993; Ruiz y cols., 1999). No obstante, la presencia del tolueno podría atribuirse también a una contaminación laboratorial (Muriel y cols., 2004a). En relación al papel que los hidrocarburos aromáticos desempeñan en el aroma global de los productos cárnicos, se les han atribuido notas aromáticas con connotaciones dulces y afrutadas (Shahidi y cols., 1986). Además, en Jamón Serrano el p-xileno se le ha atribuido un aroma descrito como “ahumado-fenólico” (Flores y cols., 1998).

Los tres hidrocarburos aromáticos detectados en el presente estudio, tolueno, etilbenceno y p-xileno, presentaron diferencias significativas ($p = 0.001$; $p = 0.000$ y $p = 0.000$ respectivamente) entre los diferentes lotes (tabla 1). Entre estos destaca el p-xileno cuya área cromatográfica fue significativamente ($p < 0.05$) mayor (más del doble) en los lomos procedentes de los cerdos alimentados en régimen extensivo en montanera (IB-MON) en comparación con las áreas cromatográficas de los lomos procedentes de cerdos criados en intensividad y alimentados con piensos control o AOVE (IBxD-CON, IBxD-AOVE, DxIB-AOVE, IB-AOVE). El tolueno también presentó valores superiores en los lomos del lote IB-MON, pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas con los lotes IBxD-AOVE y DxIB-AOVE. Por tanto, a la vista de los resultados obtenidos, la tendencia observada en los lomos del lote IB-MON a presentar un mayor contenido en hidrocarburos aromáticos, confirmaría la teoría ya apuntada por otros autores (García y cols., 1991; Tejeda y cols. 2001) de una posible relación entre una alimentación en montanera (hierba y bellotas) y el alto contenido en determinados hidrocarburos aromáticos en el producto final.

Los aldehídos constituyeron entre el 18.63% y el 23.97% del área cromatográfica total de los compuestos volátiles detectados, siendo el lote IB-AOVE el que presentó el porcentaje más elevado (Figura 2), aunque estas diferencias sólo fueron estadísticamente

significativas ($p < 0.05$) con el lote IBxD-CON, pero no con el resto de lotes AOVE ni con el lote IB-MON. Se detectaron 11 compuestos diferentes, 5 aldehídos saturados (pentanal, hexanal, heptanal, octanal y nonanal), 3 aldehídos insaturados (2-butenal (E), 2-heptenal (E) y 2-nonenal (E) en coelución con el ácido octanoico), 2 aldehídos con anillo bencénico (benzaldehído y fenilacetaldehído) y 1 aldehído ramificado (3-metilbutanal) (tabla 1). El compuesto más abundante fue el hexanal, seguido del pentanal y del 3-metilbutanal. La mayoría de los aldehídos encontrados en este estudio se originan como consecuencia de procesos de degradación de lípidos, en concreto de oxidación de ácidos grasos insaturados. De esta forma, el hexanal, pentanal, heptanal, 2-heptenal (E), y 2-nonenal (E) derivan de la oxidación del ácido linoleico (C18:2, n-6) (Elmore y cols., 2005) y su presencia es habitual en productos cárnicos curados (Ruiz y cols., 2002b). En relación al nonanal y al octanal, éstos constituyen los principales compuestos derivados de la oxidación del ácido oleico (C18:1, n-9), y han sido descritos tras el hexanal, como los aldehídos alifáticos mayoritarios en jamón Ibérico (Antequera y cols. 1992; Ruiz y cols., 1998). Por otra parte, el origen más probable del benzaldehído, fenilacetaldehído y del 3-metilbutanal es la degradación de Strecker como consecuencia de reacciones entre ciertos aminoácidos y compuestos α -carbonilos, algunos de los cuales podrían ser derivados de la oxidación lipídica (Ventanas y cols., 1992). En concreto, tanto el benzaldehído como el fenilacetaldehído tienen como origen la degradación del aminoácido fenilalanina (Pripis-Nicolau y cols., 2000), mientras que la Leucina es el aminoácido precursor del aldehído de Strecker 3-metilbutanal (Arnoldi y cols., 1987). Aunque se han propuesto otros posibles orígenes para el 3-metilbutanal, como el metabolismo microbiano (Hirinckisen y cols., 1995), estudios previos en sistemas modelo simulando las condiciones existentes durante la maduración de un producto cárnico (ver capítulo VI) apoyan la reacción de Maillard y en concreto la degradación de Strecker como la principal ruta de formación del 3-metilbutanal en productos curados. Sin embargo, en productos enteros curados como es el caso del jamón y del lomo, la proliferación microbiana en la superficie de los mismos durante la fase de secado maduración, principalmente de mohos, podría también contribuir a la formación de este tipo de compuestos (Muriel y cols., 2004b; Martín y cols., 2006). Por tanto, a la vista de los resultados obtenidos y los estudios llevados a cabo previamente tanto en sistemas modelo como en el producto real, se podría afirmar que la principal ruta de formación de determinados aldehídos ramificados tales como el 2 y el 3-metilbutanal y el fenilacetaldehído sería la degradación de Strecker y que la actividad microbiana podría considerarse como una vía complementaria a la anterior.

Los aldehídos son considerados una de las principales familias químicas determinantes del aroma del jamón (Dirinck y cols., 1997; Flores y cols., 1998), debido a sus bajos umbrales de olfacción y a poseer unas notas aromáticas muy características (ej. a rancio, dulce, floral, pungente). De hecho, algunos de los aldehídos detectados en este estudio, como el hexanal, octanal o el 3-metilbutanal han sido previamente descritos como compuestos olor-activos en jamón Ibérico (Carrapiso y cols., 2002). El hexanal y el 3-metilbutanal son dos de los compuestos volátiles que contribuyen de forma más determinante al aroma final del jamón Ibérico (García. y Timón, 2001; Ruiz y cols., 2002b), el primero con notas aromáticas a “hierba“ y con ciertas connotaciones rancias que en parte son contrarestadas con las notas aromáticas agradables a almendras, a queso y a “a madurado o curado” atribuidas a la presencia del 3-metilbutanal (Hinrichsen y cols., 1995).

En el presente estudio, todos los aldehídos detectados presentaron diferencias significativas entre lotes. Los lomos del lote IBxD-AOVE presentaron las mayores áreas cromatográficas para todos los aldehídos, aunque dichas diferencias no fueron estadísticamente significativas con todos los lotes estudiados. El lote IBxD-AOVE presentó un significativo ($p < 0.05$) mayor porcentaje en ácido oleico (C18:1 n-9) en la fracción de lípidos polares de la GIM, la de mayor susceptibilidad a sufrir procesos oxidativos, en relación al resto de lotes a excepción del lote IB-AOVE (capítulo I). Además, en las pruebas de oxidación inducida (capítulo II) en músculo *l.dorsi*, el lote IBxD-AOVE fue para el que se obtuvo, por detrás del lote IBxD-CON, mayores niveles de malonaldehído (MDA) en el minuto 200. Por tanto, los ácidos grasos de los lípidos polares presentaron una mayor susceptibilidad a la oxidación, lo que pudo haber contribuido a que dicho lote presentara para el octanal y el nonanal, derivados de la oxidación del ácido oleico (C18:1 n-9), significativamente ($p < 0.05$) mayores áreas cromatográficas en relación al resto de lotes.

Los alcoholes representaron entre un 17.15% y un 30.74% del área cromatográfica total, siendo los lotes IBxD-CON y DxIB-AOVE los que presentaron significativamente ($p < 0.05$) las mayores áreas cromatográficas de esta familia química (figura 2). Desde el punto de vista cualitativo fue la familia química que presentó una mayor variedad de compuestos volátiles con un total de 17 compuestos diferentes (tabla 1). El alcohol mayoritario fue el etanol seguido del 1-metoxi-2-propanol y del 1-hexanol. Se detectaron 8 alcoholes saturados de cadena lineal : etanol, 1-propanol, 1-pentanol, 2-hexanol, 1-hexanol, 1,3-butanodiol, 2,3-butanodiol y 1-octanol; 3 alcoholes insaturados: 1-penten-3-ol, 3-hexen-1-ol y el 1-octen-3-ol; 5 alcoholes ramificados: 2-metilpropanol, 2-metilbutanol, 3-metilbutanol, 1-metoxi-2-propanol y 2-etil-1-hexanol; y un alcohol

aromático: bencenoetanol. Estos compuestos coinciden con los descritos anteriormente en diversos productos cárnicos curados ya sean jamón (Dirink y cols., 1997; Ruiz y cols., 2002b) o lomo (Muriel y cols., 2004b).

La mayoría de los alcoholes citados en el presente estudio provienen de la descomposición oxidativa de diferentes ácidos grasos insaturados. En concreto, el 1-propanol, el 1-pentanol y el 1-octen-3-ol, derivan del ácido linoleico (C18:2, n-6) aunque para el 1-octen-3-ol también se ha descrito como precursor el ácido araquidónico (C20:4); el 1-penten-3-ol del proviene del ácido linolénico (C18:3, n-3), el 1-hexanol del ácido oleico (C18:1, n-9) y del ácido palmitoleico (C16:1, n-7) y el 1-octanol del ácido oleico (C18:1, n-9) (Forss y cols., 1972; Shahidi y cols., 1986; Im y cols., 2004; Elmore y cols., 2005). El origen más probable de los alcoholes ramificados 2-metilpropanol, 2-metilbutanol y 3-metilbutanol es la reducción de los correspondientes aldehídos de Strecker por acción enzimas de origen microbiano (Montel y cols., 1998; Martín y cols., 2006) o bien de forma espontánea en condiciones reductoras sin intervención de enzimas microbianas. Para el 1-butanodiol y el 2,3-butanodiol se ha propuesto la fermentación por acción de los microorganismos como posible ruta de formación (Meynier y cols., 1999).

De los 17 alcoholes detectados, 13 presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los lotes estudiados. El etanol fue el alcohol que presentó mayores áreas cromatográficas en todos los lotes estudiados, lo que coincide con los niveles encontrados por otros autores en lomo curado (Muriel y cols., 2004b) y jamón curado (Luna y cols., 2006). Montel y cols. (1998) vinculan la formación del etanol a la fermentación de hidratos de carbono por acción bacteriana, mientras que Stahnke y cols. (2002) establecen que la formación de este compuesto puede tener lugar por diferentes rutas. No obstante, junto con el resto de los alcoholes saturados, presenta un umbral de olfacción alto (Drumm y Spanier, 1991) y por tanto su contribución al aroma final de los productos curados parece ser escasa. El segundo alcohol mayoritario, el 2-metoxi-2-propanol, también ha sido detectado en salami por Meynier y cols. (1999) y en lomo curado por Muriel y cols. (2004b).

Por otra parte, en el presente estudio, para el 1-hexanol, el 2-etil-1-hexanol y el bencenoetanol se obtuvieron áreas cromatográficas significativamente mayores ($p < 0.05$) en los lomos del lote IB-MON que en los lomos procedentes de cerdos criados en intensivo y alimentados con piensos (AOVE o CON). Estos resultados no coinciden con los descritos por Muriel y cols. (2004b) que no encontró diferencias en los niveles de estos tres compuestos entre lomos cerdo Ibérico explotado en montanera y lomos de cerdo Ibérico criados en intensividad con piensos alto oleico. Sin embargo, otros autores (López y cols.,

1992; Sabio y cols., 1992) describen mayores niveles de 1-hexanol en jamones Ibéricos de montanera comparado con otro tipo de jamones, que atribuyen al mayor contenido en ácido oleico (cuya oxidación puede dar lugar a la formación de 1-hexanol) en los jamones Ibéricos como consecuencia de la alimentación en montanera basada en el consumo de bellotas. Sin embargo, en el presente trabajo aunque los valores de 1-hexanol fueron superiores en el lote IB-MON con respecto al resto de lotes, el porcentaje de C18:1 n-9 de la fracción de lípidos polares de la grasa intramuscular del músculo *l.dorsi* (capítulo I) de este lote únicamente fue significativamente ($p < 0.05$) superior a la de la fracción de lípidos polares del *l.dorsi* del lote IBxD-CON. Cuando se estudió el perfil de ácido grasos de la fracción de lípidos polares del lomo curado (capítulo III), la proporción de ácido oleico (C18:1 n-9) del lote IB-MON fue significativamente ($p < 0.05$) inferior a la de los tres lotes AOVE y no presentó diferencias significativas con el lote IBxD-CON. Por tanto, los mayores niveles de 1-hexanol, principalmente en relación con los lotes AOVE, en el lote de lomos de montanera (IB-MON) no parece que se debiera en este caso a un mayor contenido en el ácido graso precursor, el ácido oleico. De hecho, al igual que con el 1-hexanol, la abundancia en UAA del 1-octanol, derivado igualmente de la oxidación del ácido oleico, no guardó relación con el contenido en este ácido graso en los lotes estudiados.

Coincidiendo con los resultados expuestos en el presente trabajo, otros autores han descrito con anterioridad la presencia de 2-etil-1-hexanol en carne y productos cárnicos (Ansorena y cols., 2001; Estévez y cols. 2003; Muriel y cols. 2004b). No está muy claro el origen de este compuesto. Mientras que algunos autores como Wettansinghe y cols. (2001) establecen como origen más probable de este compuesto la oxidación lipídica, otros autores como Stahnke y cols. (2002) establecen la degradación de Strecker de ciertos aminoácidos como una posible ruta de formación de este compuesto. Desde nuestro punto de vista, parece difícil la formación de un alcohol ramificado a partir de la oxidación de un ácido graso, coincidiendo con lo descrito por Estévez y cols. (2003) que describen como poco probable esta ruta de formación, ya que en carne cocinada y refrigerada donde se esperan encontrar elevados niveles de productos de oxidación lipídica, el 2-etil-1-hexanol se detectó en bajas cantidades. Por otra parte, la degradación de Strecker implica un mecanismo de desaminación-decarboxilación de un aminoácido en presencia de un compuesto α -dicarbonilo con la consiguiente formación de un aldehído de Strecker con un carbono menos que el aminoácido de partida (Cheftel y Cheftel, 1976). Por tanto, teniendo en cuenta que el 2-etil-1-hexanol presenta 8 átomos de carbono, el aminoácido de partida

debería tener 9 átomos de carbono. De los principales aminoácidos en productos cárnicos, únicamente la tirosina (Tyr) y la fenilalanina (Phe) presenta este número de carbonos. En el caso de la Phe como consecuencia de este tipo de reacciones se ha descrito la formación de los aldehídos de Strecker, benzalaldehído y fenilacetaldehído, pero no de 2-etil-1-hexanol. La presencia de un anillo bencénico en el aminoácido Tyr hace que sea poco probable la formación del 2-etil-1-hexanol a partir de la degradación de Strecker de este aminoácido. Finalmente, si descartamos como poco probable la oxidación lipídica y la degradación de Strecker como reacciones de formación del 2-etil-1-hexanol, otro posible origen de este compuesto podría ser el metabolismo microbiano. En este sentido, la producción de alcoholes y cetonas de 8 átomos de carbono parece ser habitual como resultado del metabolismo de los mohos (Larsen y cols., 1995). No obstante, en el estudio realizado en sistemas modelo estériles con liposomas (capítulo VI) este compuesto fue detectado en algunos de los sistemas modelo analizados tanto en aquellos que presentaban únicamente liposomas como en los que presentaban liposomas y aminoácidos, aunque finalmente no se incluyó en la tabla final donde se detallan los compuestos seleccionados.

De los alcoholes identificados, aquellos que presentaron dobles insaturaciones y algunos alcoholes ramificados son los que poseen umbrales de olfacción más bajos y por tanto los que podrían contribuir al aroma global del los lomos estudiados. En concreto el 1-penten-3-ol se caracteriza por presentar notas aromáticas a mantequilla y en jamón Serrano se ha descrito con un aroma definido como “a cebolla tostada” (Flores y cols., 1998). El 1-octen-3-ol presenta un típico aroma a champiñones con un bajo umbral de olfacción (10ppb; Im y cols., 2004) y ha sido descrito como compuesto olor-activo en jamón Ibérico (Carrapiso y cols., 2002). Finalmente, el 3-metilbutanol se caracteriza por notas aromáticas a plantas (Sanchez-Peña y cols., 2005) y el feniletanol (o benzenetanol) presenta notas aromáticas florales (García y cols., 1991).

El porcentaje de área cromatográfica obtenido para la familia química de las cetonas estuvo comprendido en un rango entre el 3.30% del lote IBxD-AOVE y el 6.24% del lote DxIB-AOVE. Tanto el lote IBxD-AOVE como el IB-MON presentaron un porcentaje de cetonas significativamente ($p < 0.05$) superior a los otros tres lotes (figura 2). Se identificaron un total de 10 cetonas, siendo la más abundante la 2-propanona seguida de la 3-hidroxi-2-butanona (Tabla 1).

Coincidiendo con el perfil identificado tanto en el jamón (Dirinck y cols., 1997; Ruiz y cols., 2002b) como en lomo (Muriel y cols., 2004a, 2004b) las cetonas más destacadas (6 de 10) fueron las 2-alcanonas (o metil-cetonas) de C_3 - C_9 átomos de carbono. La ruta más

probable de formación de las cetonas en jamón curado y por extensión probablemente también en el lomo curado es la oxidación química de los ácidos grasos. Así por ejemplo, la 2-heptanona y la 2,3-octanodiona derivan del ácido linoleico (C18:2, n-6) (Elmore y cols., 2005). Únicamente en aquellos casos en los que la cantidad de este tipo de compuestos es muy elevada se podría pensar en la participación de los microorganismos (Sabio y cols., 1998). Sobre la superficie de las piezas (jamones y lomos), como ya se ha descrito anteriormente, existe una importante proliferación de mohos (*Penicillium*) y levaduras (*Debariomyces*) (Nuñez y cols., 1996) durante el proceso madurativo con demostrada capacidad para la generación de compuestos volátiles incluidas las metilcetonas (Creuly y cols. 1992; Martín y cols., 2003). En este sentido, Muriel y cols. (2004b) detectaron niveles significativamente superiores de 3-octanona en la superficie de lomos curados en comparación con los detectados en el interior del lomo, atribuyendo estas diferencias a la mayor proliferación microbiana existente en la superficie de las piezas en comparación con el interior de las mismas.

La 2-heptanona se caracteriza por aportar notas aromáticas que recuerdan al aroma del queso azul (Ruiz y cols., 2002b). Además, este compuesto es uno de los que contribuye de forma más importante al aroma del jamón Ibérico ya que ha sido identificado en este producto como compuesto olor activo (en coelución con el 2-metil-3-furantiol) donde su aroma ha sido descrito como: aroma a jamón curado, a tostado y a almendras (Carrapiso y cols., 2002). Por su parte la 6-metil-5-hepten-2-ona ha sido detectada en jamón Serrano (Flores y cols., 1998) donde contribuye al aroma global del producto con un aroma a caramelo de cítrico. Ni la 2-heptanona ni la 6-metil-5-hepten-2-ona, presentaron diferencias significativas entre los 5 lotes estudiados (tabla 1).

La 2-propanona fue la cetona mayoritaria en todos los lotes estudiados a excepción del lote IB-AOVE donde la más abundante fue la 3-hidroxi-2-butanona. De hecho, el lote IB-AOVE presentó un área cromatográfica significativamente ($p < 0.01$) menor para la 2-propanona en comparación con los otros 4 lotes estudiados. En estudios previos realizados en jamón (Dirinck y cols., 1997; Sanchez-Peña y cols., 2005; Luna y cols., 2006) la 2-propanona fue también la cetona mayoritaria. Por su parte, el área cromatográfica de la 2-pentanona fue superior en el lote IB-MON con respecto al resto de los lotes estudiados, aunque dichas diferencias no fueron significativas con el lote IBxD-CON.

En la mayoría de los estudios realizados previamente tanto en jamón (López y cols., 1992; Ruiz y cols., 1999) como en lomo Ibérico (Muriel y cols., 2004a, 2004b) también se detectó la 2-pentanona. Esta cetona podría desempeñar un papel importante en el aroma del

lomo ya que ha sido identificada como compuesto olor-activo en jamón Ibérico donde se le ha atribuido un aroma frutal-tropical (Carrapiso y cols., 2002). La 2-hexanona únicamente se detectó en 3 de los 5 lotes estudiados, siendo el área cromatográfica significativamente ($p < 0.05$) superior en los dos lotes AOVE (IB y DxIB) en comparación con el lote IB-MON. A esta metil-cetona se le ha atribuido un aroma a flor de manzana en jamón Serrano (Flores y cols., 1998). La cetona insaturada 3-octen-2-ona fue significativamente ($p < 0.05$) superior en los lomos del lote IBxD-AOVE con respecto a los lomos procedentes del lote DxIB-AOVE. Este tipo de cetonas, con insaturaciones, son responsables de impartir notas aromáticas particulares a grasas animales y vegetales (Forss y cols., 1972). Del resto de cetonas identificadas cabe destacar la 3-hidroxi-2-butanona (acetoina) cuyos niveles fueron mayores en los lomos del lote IB-AOVE, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa con el lote IB-MON. Este compuesto confiere un aroma a mantequilla en la carne cocinada (Shahidi y cols., 1986), mientras que en jamón Serrano se le han atribuido aromas relacionados con el olor a mermelada de fresas comercial (Flores y cols., 1998). Por último, los niveles detectados de la 2,3-octanodiona fueron significativamente superiores en el lote IBxD-AOVE en comparación con el resto de los 4 lotes estudiados. Estos resultados se podrían ser debidos a que en los lomos de este lote las reacciones de oxidación probablemente tuvieron lugar con mayor intensidad, como demuestra los mayores niveles detectados de la mayoría de los compuestos volátiles derivados de la oxidación lipídica.

El porcentaje de área cromatográfica total obtenida para la familia de los ácidos estuvo comprendido en un rango desde el 8.79% para el lote IBxD-AOVE hasta el 17.46% para el lote IB-MON. Los dos lotes de lomos procedentes de cerdos de raza Ibérica pura (IB-AOVE e IB-MON) presentaron significativamente ($p < 0.05$) mayores porcentajes de área para los ácidos en comparación con el resto de lotes procedentes de cerdos cruzados, aunque entre el lote IB-AOVE y el lote DxIB-AOVE dichas diferencias no fueron estadísticamente significativas (figura 2). De los 9 ácidos identificados, 3 de ellos, el ácido propanoico, el ácido hexanoico y el ácido octanoico se presentaron en coeluciones con otros compuestos (tabla 1). El perfil de ácidos identificados coincide con el descrito anteriormente por otros autores en jamón o lomo curados (Ruiz y cols., 2002b; Muriel y cols. 2004a).

En cuanto al origen de estos compuestos, la mayoría de los ácidos de cadena lineal (acético, propanoico, butanoico, y hexanoico) provienen de la hidrólisis de triglicéridos y fosfolípidos o de la oxidación de ácidos grasos insaturados (Girard y Bucharles., 1991). Im

y cols. (2004) detectaron algunos de estos ácidos carboxílicos tras la oxidación de diferentes sistemas que presentaban fosfolípidos o ácido oleico o ácido linoleico o ácido linolénico o araquidónico a temperatura ambiente. El ácido acético fue el ácido carboxílico mayoritario en todos los lotes estudiados, coincidiendo con los resultados descritos previamente por Muriel y cols. (2004a) en lomos curados. No obstante, no se detectaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en las áreas cromatográficas obtenidas entre los diferentes lotes estudiados (tabla 1). Se han propuesto diferentes rutas de formación para este compuesto, así Montel y cols. (1998) proponen la oxidación de ácidos grasos y el catabolismo microbiano de la alanina, mientras que Kandler (1983) describe este ácido como producto del metabolismo de bacterias lácticas homofermentativas y de *Staphilococcus*. En el caso del lomo curado, la actividad bacteriana de los microorganismos de la superficie puede haber contribuido a los altos niveles encontrados de ácido acético.

De los ácidos grasos de cadena lineal, aquellos que presentan menos de 6 átomos de carbono, como el ácido butanoico y propanoico, son los que pueden contribuir en mayor medida al aroma del lomo curado, debido a que presentan unos bajos niveles de olfacción y a poseer notas aromáticas relacionadas con un aroma fuerte “a queso”. Estos compuestos se detectan frecuentemente en productos donde tienen importancia los procesos fermentativos como salchichas o chorizos a los que imparten aromas típicos a ácido y a queso (Ansorena y col., 2001). En el presente estudio, el lote de lomos IB-AOVE fue el que presentó mayores niveles tanto de ácido propanoico como de ácido butanoico, aunque en el caso del primero las diferencias con los otros dos lotes AOVE no fueron estadísticamente significativas.

Del resto de los ácidos identificados, el ácido 2-metilpropanoico y el ácido 3-metilbutanoico derivados de los correspondientes aldehídos de Strecker (2-metilpropanal y 3-metilbutanal) (Ruiz y cols., 2002b), se caracterizan por presentar bajos umbrales de olfacción y notas aromáticas dulces (Mateo y Zumalacárregui., 1996).

En relación a la familia de los ésteres, el lote IB-MON fue el que presentó los niveles significativamente ($p < 0.05$) más bajos en comparación con el resto de lotes, aunque las diferencias no fueron significativas con el lote IBxD-AOVE. Para el lote IB-MON se obtuvo un % de área cromatográfica total de 0.74%, mientras que en el lote DxIB-AOVE se obtuvieron los valores más altos (1.86%) (figura 2). Se identificaron un total de seis etil y metil ésteres cuyo origen más probable son reacciones de esterificación entre alcoholes, como el etanol, y ciertos ácidos carboxílicos (Shahidi y cols., 1986), aunque, algunos como

el etilacetato, también se han descrito como productos del metabolismo microbiano (Stahnke, 1994; Bruna y cols., 2001) (tabla 1). El éster más abundante fue el etilacetato, coincidiendo con los resultados obtenidos previamente por Muriel y cols. (2004) en lomo curado. En el lote de lomos IB-MON se detectaron niveles significativamente ($p < 0.05$) inferiores de este compuesto con respecto al resto de los lotes estudiados. Todos los ésteres identificados en el presente trabajo presentaron menos de 10 átomos de carbono al proceder de ácidos de cadena corta (etanoatos, butanoatos, y propanoatos) por lo que podrían contribuir al aroma final de los lomos, ya que se ha descrito que estos compuestos se caracterizan por impartir notas aromáticas afrutadas y dulces en carne de cerdo (Flores y cols., 1998). Del resto de ésteres, habría que destacar el 2-metilpropanoato de etilo que fue detectado en todos los lotes a excepción del lote IB-MON, y que aportaría notas aromáticas frutales (Flores y cols., 1998). Tanto los niveles del 3-metilbutanoato de etilo como del hexanoato de etilo fueron significativamente ($p < 0.05$) superiores en el lote IBxD-AOVE. Las familias químicas de los terpenos y los compuestos nitrogenados presentaron significativamente ($p < 0.05$) mayores áreas cromatográficas, 0.55 % y 0.62 % respectivamente, en los lomos procedentes de cerdos de raza Ibérica pura y explotados en régimen de montera (lote IB-MON) en comparación con las áreas detectadas en los lomos de cualquiera de los otros lotes estudiados (Figura 2). No obstante, las diferencias entre el lote IB-MON y el lote DxIB-AOVE no fueron significativas para la familia de los compuestos nitrogenados.

Se detectaron 3 compuestos terpénicos: α -pineno, Δ -3-careno y limoneno, siendo el más abundante el α -pineno (tabla 1). En estudios previos realizados tanto en jamón como en lomo curado se han detectado éstos y otros compuestos terpénicos (Timón y cols., 1998; Ruiz y cols., 1999; Muriel y cols., 2004a, 2004b; Sánchez-Peña y cols., 2005; Luna y cols., 2006). La presencia de compuestos terpénicos puede ser debida a dos posibles orígenes. Por una parte, en aquellos productos como chorizo, salami, salchichón o lomo adobado (Viallon y cols, 1996; Meynier y cols, 1999; Ansorena y cols., 2001; Muriel y cols, 2004), en los que es habitual la inclusión de determinados ingredientes como ajo, pimentón o pimienta, su origen se encuentra en dichas especias, siendo los niveles de compuestos terpénicos elevados, e incluso los mayoritarios en algunos casos (Maarse y cols., 1989; Stahnke y cols., 2002). En segundo lugar, dichos compuestos pueden provenir de la alimentación y acumularse en el tejido graso animal (Buscailhon y cols., 1993), lo que explicaría la presencia de terpenos en productos cárnicos procesados sin especias como en el jamón Serrano o Ibérico y en los lomos del presente estudio. Además, en el presente

trabajo todos los compuestos terpénicos identificados fueron detectados en cantidades significativamente ($p < 0.05$) superiores en los lomos del lote IB-MON. Coincidiendo con estos resultados Luna y cols. (2006) describieron mayores cantidades de limoneno en jamones Ibéricos de montanera que en jamones de cerdos comerciales, lo que atribuyeron al consumo de bellotas y hierba por parte de los cerdos Ibéricos durante la montanera, puesto que estos compuestos son constituyentes habituales de la fracción insaponificable de las grasas vegetales (Sabio y cols., 1998; Cornu y cols., 2001). En cuanto a su importancia en el aroma, los terpenos presentan niveles de olfacción muy bajos y notas aromáticas florales y frutales muy agradables (Ruiz y col., 2002b), por lo que podrían contribuir de forma importante al aroma final de los lomos aunque los niveles detectados no fueran muy elevados.

En cuanto a los compuestos nitrogenados, se detectaron 2 (tabla 1): la piridina en coelución con el dimetildisulfuro y la 2,6-dimetilpiracina, siendo esta última la mayoritaria. Las piracinas son productos de las reacciones de Maillard que se originan habitualmente durante el cocinado de la carne (Mottram, 1998). En concreto la ruta más probable de formación de las alquilpiracinas, como la 2,6-dimetilpiracina, es la condensación de dos moléculas de α -aminocetonas originadas como consecuencia de la degradación de Strecker de un aminoácido en presencia de un compuesto dicarbonilo (Mottram., 1998). Aunque las temperaturas alcanzadas durante el proceso madurativo de un jamón o un lomo no son tan elevadas como las existentes durante el cocinado de la carne, la gran cantidad de aminoácidos libres generados como consecuencia de los fenómenos proteolíticos que tienen lugar principalmente durante las primeras fases de procesado, junto con la formación de gran cantidad de compuestos dicarbonilo o epoxi-carbonilos derivados principalmente de la oxidación lipídica, facilitan las reacciones de Maillard dando lugar a la formación de una gran variedad de compuestos volátiles, entre los que se incluyen la 2,6-dimetilpiracina (Ventanas y cols., 1992; Ruiz y cols., 2002b). Pripis-Nicolau y cols. (2000) describieron la formación de 2,6-dimetilpiracina a 25°C como producto de la reacción del aminoácido cisteína y un compuesto dicarbonilo (metilglioxal). La formación de aldehídos de Strecker que por tanto reflejarían la posibilidad de que tengan lugar reacciones de Maillard a temperatura ambiente y en unas condiciones similares a las existentes durante el procesado de un producto cárnico, se ha puesto de manifiesto en sistemas modelo cuyos resultados se describen en el capítulo VI. En este sentido, en estudios recientes realizados sobre el aroma y perfil de compuestos volátiles de jamones y lomos Ibéricos, es habitual la detección de piracinas, y en concreto la 2,6-dimetilpiracina

parece ser que tiene un papel determinante el olor y flavor del jamón Ibérico (Jurado, 2005). Los compuestos derivados de las reacciones de Maillard como las piracinas presentan unas notas aromáticas muy agradables a tostado, en concreto la 2,6-dimetilpiracina se caracteriza por un aroma a almendras tostadas (Flores y cols., 1998). En el presente estudio, los lomos del lote de montanera (IB-MON) presentaron niveles de 2,6-dimetilpiracina superiores a los del resto de lotes, aunque estas diferencias no fueron significativas con el lote IB-AOVE. Estos resultados coincidirían con los descritos por Jurado (2005) que detectó niveles mayores de este compuesto en jamones Ibéricos de montanera que en los de pienso, acentuándose estas diferencias a medida que avanzaba el procesado.

El resto de familias químicas detectadas: azufrados, clorados y furanos, supusieron menos del 0.5% del área cromatográfica total (figura 2).

Tanto el cloroformo como el diclorometano han sido detectados previamente en jamón o en lomo (Andrés y cols., 2002; Muriel y cols, 2004a). La presencia de estos dos compuestos en los cromatogramas de los lomos estudiados se asocia a contaminación de tipo laboratorial (Ruiz y cols., 1999).

Por otra parte, la presencia del 2-butilfurano y del 2-pentilfurano coincide con los resultados descritos por otros autores en jamones de diversas procedencias (Lopez y cols., 1992; Ruiz y cols., 1998; Pastorelli y cols., 2003) y en lomo curado (Muriel y cols., 2004a, 2004 b). Estos compuestos derivan de la oxidación de lípidos insaturados, en concreto el 2-pentilfurano proviene de la oxidación del ácido linoleico (C18:2, n-6) (Grosch, 1987; Elmore y cols., 2005) y se caracteriza por presentar un bajo umbral de olfacción (Grosch, 1987). Este compuesto podría tener un papel importante en el aroma de los lomos debido a que su presencia en jamón Serrano se ha relacionado con el típico aroma “a jamón” (Flores y cols., 1998). Ninguno de los dos furanos identificados en los lomos presentó diferencias significativas entre los 5 lotes estudiados.

Finalmente, se identificaron 3 compuestos azufrados: el metil disulfuro, el dimetildisulfuro en coelución con la piridina, que fue el mayoritario y el benceno-1,1-tiobis. El origen de de los dos primeros compuestos se atribuye a la degradación de Strecker de ciertos aminoácidos azufrados (cisteína, metionina) en presencia de compuestos carbonilos derivados de la oxidación lipídica como el diacetilo o la 2,3-pentanodiona (Pipris-Nicolau y cols., 2000; ver capítulo VI). Los compuestos con azufre presentan bajos umbrales de olfacción por lo que su contribución al aroma parece ser importante, aunque en el caso del dimetildisulfuro en jamón Serrano se le han atribuido connotaciones aromáticas

desagradables definidas como a “calcetín sucio”, cuando se presenta en cantidad elevadas (Flores y cols., 1998). El metil disulfuro únicamente fue detectado en los lomos del lote IB-MON.

Con el objetivo de presentar una visión más clara de los resultados obtenidos en el presente trabajo, a continuación se describen las principales diferencias observadas en el perfil de compuestos volátiles del lomo curado en función del sistema de alimentación durante la fase de cebo, de la genética y de determinadas características del procesado como es la ausencia de determinados ingredientes del adobo en las piezas.

VIII.3.1. Influencia de la alimentación en montanera sobre el perfil de compuestos volátiles

Para evaluar este factor, se compararon los perfiles de los lomos de los lotes IB-MON e IB-AOVE, puesto que los lomos de ambos lotes proceden de cerdos de raza Ibérica pura y las diferencias sustanciales fueron en el sistema de explotación durante la fase de cebo (montanera vs intensivo con piensos AOVE).

De los compuesto volátiles detectados en mayores cantidades en lo lomos procedentes de cerdos de montanera (lote IB-MON) se incluyen compuestos que podrían considerarse como marcadores de la alimentación, puesto que su origen en el producto final se asocia al consumo por los cerdos de hierba y /o bellotas que presentan estos compuestos y su posterior depósito en los tejidos grasos animales (Berdagué y cols., 1993; Ruiz y cols. 2002b; Buscailhon y cols., 1993). En este grupo se incluirían, el decano, el hidrocarburo aromático p-xileno, y los tres compuestos terpénicos descritos en el presente trabajo (α -pineno, Δ -3-careno y limoneno). Todos ellos fueron detectados en mayores cantidades en los lomos del lote de montanera. Además los hidrocarburos aromáticos y los compuestos terpénicos podrían contribuir con connotaciones agradables (dulces, afrutadas, florales y frutales) al aroma global de los lomos.

El predominio en los lomos del lote IB-MON de otros compuestos con connotaciones aromáticas agradables como la 2-pentanona (frutal-tropical), el bencenoetanol (florales), la 2,6-dimetilpiracina (a almendras tostadas) o con bajos umbrales de olfacción como el compuesto azufrado metil disulfuro, podrían contribuir a que estos lomos presentaran un aroma característico y diferente al del grupo de lomos de cerdos criados en intensivo con piensos. En el capítulo IV de esta tesis Doctoral se ha descrito el perfil sensorial de estos mismos lotes de lomos emitido por un panel de catadores expertos, en el que no se establecieron diferencias en función de la alimentación en los atributos relacionados con el flavor del producto final. Sin embargo, en un estudio realizado con consumidores con

lomos procesados a partir del mismo músculo que los evaluados en el presente estudio (capítulo V), los consumidores, principalmente los mayores de 25 años, establecieron como más jugosos los lomos del lote de montanera en relación a los lomos del lote IB-AOVE. Además de factores relacionados con la presencia de determinados aminoácidos en los lomos de montanera que pudieran potenciar el sabor de estos y por tanto incrementar la jugosidad, la presencia de determinados compuestos volátiles con connotaciones aromáticas agradables pueden igualmente haber contribuido a mejorar la sensación de jugosidad de este producto.

Por último habría que destacar que la presencia en mayores cantidades de compuestos como el 1-hexanol derivado de la oxidación del ácido oleico, del metil disulfuro producto de la degradación de Strecker de aminoácidos azufrados y de la 2,6-dimetilpiracina producto de las reacciones de Maillard, podrían indicar una mayor intensidad o predominio de este tipo de reacciones durante el procesado de los lomos del lote IB-MON. En este sentido, en el capítulo VI donde se estudió la formación de compuestos volátiles en sistemas modelo, aquellos que contenían liposomas preparados a partir de músculo *l.dorsi* de los cerdos del lote IB-MON, presentaron un incremento de las áreas cromatográficas detectadas de los aldehídos derivados de Strecker a lo largo del periodo de incubación.

VIII.3.2. Influencia de la genética sobre el perfil de compuestos volátiles del lomo curado

Para evaluar la influencia de la genética se compararon los perfiles de los lomos de los tres lotes AOVE: IB vs los dos cruzados con el objetivo de estudiar el efecto de utilizar raza Ibérica pura o cruzado de Ibérico x Duroc, e IBxD vs DxIB para estudiar el efecto del tipo de cruce.

Con respecto a los dos lotes de cerdos cruzados (IBxD-AOVE y DxIB-AOVE), el lote IB-AOVE presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) únicamente en seis compuestos, de los que en cinco de ellos las áreas detectadas fueron superiores a las de los lotes cruzados y en una, para la 3-hidroxi-2-butanona, fue inferior.

Los lomos de los lotes IBxD-AOVE y DxIB-AOVE presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en 32 de los 73 compuestos identificados. De éstos, el lote IBxD-AOVE presentó significativamente ($p < 0.05$) mayores áreas cromatográficas para 27 compuestos mientras que para el lote DxIB-AOVE solamente 6 compuestos presentaron mayores áreas cromatográficas. Entre los compuestos con mayor representación en el lote IBxD-AOVE destacan compuestos derivados de la oxidación lipídica como el hexanal, el pentano, el octanal y nonanal. Por otra parte, entre los compuestos que presentaron mayores áreas en el

lote DxIB-AOVE destacan alcoholes derivados de los aldehídos de Strecker como el 3-metilbutanol y el 2-metilpropanol así como la 2-hexanona que no fue detectada en el lote IBxD-AOVE. Por tanto, estos resultados indicarían que la utilización de un hembra reproductora de raza Ibérica o de raza Duroc si pudo influir, principalmente desde el punto de vista cuantitativo, en los compuestos volátiles analizados en los lomos curados.

Por tanto en este caso parece que tuvo una mayor influencia en el perfil de volátiles detectados el tipo de cruce empleado que el que fueran de raza Ibérica pura frente a cruzado.

No obstante, teniendo en cuenta que en el resto de características físico-químicas así como en los atributos sensoriales no se obtuvieron diferencias entre los lomos de ambos tipos de cruces, no parece que las diferencias descritas en el perfil de compuestos volátiles tuvieran un efecto determinante en las características del producto final

VIII.3.3. Influencia de la ausencia de los ingredientes del adobo en el perfil de compuestos volátiles del lomo curado Ibérico de montanera.

En la figura 3, se muestra una gráfica comparativa entre las áreas cromatográficas de las familias químicas en UAA correspondiente a los lomos Ibéricos de montanera (IB-MON) empleados en el presente estudio y las correspondientes a las mismas familias químicas obtenidas para lomos de cerdos de raza Ibérica pura explotados en similares condiciones a los del presente estudio (montanera) pero con la adición de adobo durante el procesado (CA) (Muriel., 2003). El perfil de compuestos volátiles de los lomos curados en ambos casos fue analizado en las mismas condiciones analíticas (tanto de extracción como cromatográficas). De esta forma se puede evaluar el efecto real que la presencia de determinados ingredientes tienen en el perfil de compuestos volátiles del lomo curado, ya que en el estudio llevado a cabo por Muriel (2003) se incluyó pimentón, ajo y aceite de oliva como ingredientes siguiendo el modo tradicional de procesado, mientras que en el presente estudio dichos ingredientes no fueron empleados.

Como se puede observar en la Figura 3, las cantidades (UAA x 10⁶) obtenidas para las familias químicas de los hidrocarburos alifáticos y los aldehídos fueron similares para los lomos de ambos estudios, mientras que para el resto de las familias químicas los lomos CA, procesados con pimentón, ajo y aceite de oliva, presentaron cantidades superiores a las obtenidas en el espacio de cabeza de los lomos del presente estudio (IB-MON). La actividad antioxidante atribuida a determinadas especias como el ajo y el pimentón (Aguizerrezabal y cols., 2000) podría explicar que el contenido en hidrocarburos alifáticos y en aldehídos en el grupo de lomos CA no superara al obtenido para los lomos IB-MON,

como si ocurre para el resto de familias químicas, ya que pudo contribuir a frenar los procesos oxidativos y en consecuencia la formación de estos compuestos que, como ya se ha expuesto con anterioridad, derivan principalmente de la oxidación de ácidos grasos insaturados.

El área cromatográfica total obtenida para las familia química de las cetonas en los lomos Ibéricos de montanera procesados con pimentón, ajo y aceite de oliva (CA) (Muriel., 2003) fue muy superior (más de 5 veces) al obtenido para los lomos del lote IB-MON del presente estudio (71.69×10^6 vs 533.97×10^6 UAA). Los ésteres presentaron un comportamiento similar, siendo los niveles hasta 20 veces superior en los lomos CA con respecto a los IB-MON (9.61×10^6 vs 198.97×10^6 UAA). El hecho de que los procesos oxidativos se hayan visto frenados por la presencia de las especias y del ajo, en los lomos procesado con dichos ingredientes, podría haber favorecido la formación de compuestos volátiles derivados de la actividad de mohos y levaduras presentes principalmente en la superficie de las piezas, lo que podría explicar el mayor contenido en cetonas y ésteres en dichos lomos. De esta forma, por el contrario, en los lomos procesados sin especias, ajo y pimentón (IB-MON), predominarían los compuestos derivados de la oxidación lipídica.

En el caso tanto de los compuestos térpénicos como de los azufrados, ambas familias químicas presentaron niveles superiores en los lomos procesados con especias y ajo (CA) en comparación con los lomos procesados sin dichos ingredientes (IB-MON), lo que es una consecuencia directa de la presencia de las especias principalmente en el caso de los compuestos terpénicos (Meynier y cols. 1999) y del ajo en el caso de los azufrados (Mateo y Zumalacárregui, 1996).

Finalmente las áreas cromatográficas totales obtenidas para las familias químicas de los ácidos y de los alcoholes fueron superiores en los lomos CA en comparación con las obtenidas para los lomos procesados sin adobo (IB-MON). No obstante, en este sentido hay que señalar que las mayores diferencias entre ambos lotes (IB-MON y CA) para estas familias químicas se debieron principalmente a dos compuestos concretos, el etanol (100.34×10^6 vs 642×10^6 UAA) y el ácido acético (189.62×10^6 vs 650.60×10^6 UAA). Como se ha descrito anteriormente, el origen más probable de ambos compuestos volátiles es el metabolismo microbiano lo que confirmaría la presencia destacada en los lomos CA de compuestos volátiles derivados de la actividad microbiana, principalmente de mohos y de levaduras.

VIII.4. CONCLUSIONES

En el perfil de compuesto volátiles de los lomos estudiados destacan los compuestos derivados de la oxidación lipídica así como otros con importantes connotaciones aromáticas derivados de la degradación de Strecker y de reacciones de Maillard. En términos generales, dicho perfil coincide con los perfiles descritos por otros autores en jamón Ibérico. No obstante, la presencia de determinados compuestos volátiles derivados del metabolismo microbiano, como determinados ácidos, alcoholes y metil cetonas indica que el perfil de compuestos volátiles del lomo curado presenta unas características intermedias entre el del jamón Ibérico, con predominio de compuestos derivados de la oxidación lipídica, y el de determinados embutidos donde la actividad microbiana tiene un papel destacado.

Los lomos curados de cerdos explotados en régimen de montanera se caracterizan por presentar compuestos volátiles con connotaciones aromáticas intensas y agradables (principalmente hidrocarburos aromáticos y compuestos terpénicos) seguramente como consecuencia de la alimentación basada en el consumo de bellotas y hierba.

La influencia de la genética en el perfil de compuestos volátiles es escasa y únicamente afecta al tipo de cruce y no al empleo de animales de raza Ibérica pura frente a animales cruzados con Duroc en la elaboración de los lomos.

La ausencia del empleo de especias, ajo y aceite en el procesado del lomo curado influye en el perfil de compuestos volátiles del producto final. En este sentido, como consecuencia directa de la ausencia de estas especias los niveles de determinados volátiles principalmente los incluidos en las familias químicas de los compuestos azufrados y terpénicos son inferiores en los lomos procesados sin adobo.

VIII.5. REFERENCIAS

- Andrés A. I., Cava R. y Ruiz J. (2002). Monitoring volatile compounds during dry-cured ham ripening by solid-phase microextraction coupled to a new direct-extraction device. *Journal of Chromatography A*, 963, 83-88.
- Ansorena D., Gimeno O., Astiasarán I. y Bello J. (2001). Analysis of volatile compounds by GC-MS of a dry-fermented sausage: chorizo de Pamplona. *Meat Science* 34, 67-75.
- Antequera T., López-Bote C., Córdoba J. J., García C., Asensio M. A., Ventanas J., García Regueiro J. A. y Díaz I. (1992). Lipid oxidative changes in the processing of Iberian hams. *Food Chemistry*, 45, 105-110.

- Arnoldi A., Arnoldi C., Baldi O. y Griffini A. (1987). Strecker Degradation of Leucine and Valine in a Lipidic Model System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35, 1035-1038.
- Berdagué J.L., Bonnaud N., Rousset, S. y Touraille C. (1993). Influence of pig crossbreed on the composition volatile compound content and flavour of dry-cured ham. *Meat Science*, 34, 119-129.
- Boletín Oficial del Estado. (2001). Real Decreto 1083/2001, de 5 de Octubre, por el que se aprueba la norma de calidad para el jamón Ibérico, paleta ibérica y caña de lomo Ibérico elaborados en España. *B.O.E.*, 247, October 15, 37830-37833.
- Bruna J. M., Hierro E. M., de la Hoz L., Mottram D. S., Fernández M. y Ordoñez J. A. (2001). The contribution of *Penicillium aurantiogriseum* to the volatile composition and sensory quality of dry fermented sausages. *Meat Science*, 59, 97-107.
- Buscailhon S., Berdagué J. L. y Monin G. (1993). Time related changes in volatile compounds of lean tissues during processing of French dry-cured hams. *Journal of the Science of Food and Agricultural*, 63, 69-75.
- Carrapiso A. I., Jurado A., Timón M. L. y García, C. (2002a). Odor-Active Compounds of Iberian Hams with Different Aroma Characteristics *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6453-6458.
- Cava R., Ventanas J., Tejada J. F., Ruiz J. y Antequera T. 2000. Effect of free-range rearing and α -tocopherol and copper supplementation on fatty acid profiles and susceptibility to lipid oxidation of fresh meat from Iberian pigs. *Food Chemistry*, 68, 51-59.
- Carrapiso A. I., Ventanas J. y García C. (2002). Characterization of the Most Odor-Active Compounds of Iberian Ham Headspace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1996-2000.
- Cheftel J. C. y Cheftel H. (1976). Pardeamiento no enzimático. En: Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos, volume I. Editorial Acribia, Zaragoza, España. pp 291-308.
- Creuly C., Larroche C. y Gros J. B. (1992). Bioconversion of fatty acids into methyl ketones by spores of *Penicillium roquefortii* in a water-organic solvent, two-phase system. *Enzyme and Microbial Technology*, 14, 669-678.
- Cornu A., Carnat A. -P., Martín B., Coulon J. B., Lamaison J. L., Berdagué J. L. (2001). Solid phase microextraction of volatile components from natural grassland plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (1), 203-209.
- Descalzo A. M., Insani E. M., Biolatto A., Sancho A. M., García P. T., Pensel N. A. y Josifovich J. A. (2005). Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science*, 70, 35-44.
- Dirinck P., Van Opstaele F. y Vandendriessche F. (1997). Flavour differences between northern and southern European cured hams. *Food Chemistry*, 59, 511-521.
- Drumm T. D. y Spanier A. M. (1991). Changes in the content of lipid autoxidation and sulphur-containing compounds in cooked beef during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 336-343.
- Elmore J. S., Cooper S. L., Enser M., Mottram D. S., Sinclair L. A., Wilkinson R. G. y Wood. (2005). Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb and meats and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Science*, 69, 233-242.

- Estévez M., Morcuende D., Ventanas S. y Cava R. (2003). Analysis of volatiles in meat from Iberian pigs and Lean pigs after refrigeration and cooking using SPME-GC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3429
- Flores, M., Spanier A. M. y Toldrá F. (1998). Flavour analysis of dry-cured ham. En: Flavour of meat, meat products and seafoods. Shahidi. Ed: Chapman and Hall, Cornwall. Great Britain, pp 320-339.
- Forss, D.A. (1972). Odor and flavor compounds from lipids. *Prog. Chem. Fats Other lipids*, 13, 181-258.
- García C., Berdagué J. J., Antequera T., López-Bote C., Córdoba J. J. y Ventanas J. (1991). Volatile components of dry-cured Iberina ham. *Meat Science*, 41, 23-32.
- García C. y Timón M. L. (2001). Los compuestos responsables del “flavor” del jamón Ibérico. Variaciones en los distintos tipos de jamones. En: *Tecnología del jamón Ibérico: de los sistemas tradicionales a la explotación tradicional del sabor y el aroma*. Jesús Ventanas. Ediciones: Mundiprensa. Madrid, pp 391-418.
- García Esteban M., Ansorena D., Astiasarán I. y Ruiz J. (2004). Study of the effect of different fiber coatings and extraction conditions on dry-cured ham volatile compounds extracted by solid-phase microextraction (SPME). *Talanta*, 64, 458-466.
- Girard J. P. y Buchard C. (1991). La acidificación. En: *Tecnología de la carne y los productos cárnicos*. Girard J.P. Zaragoza, España: Acribia S.A.
- Grosch W. (1987). Reactions of hydroperoxide products of low molecular weights. En: *Autooxidation of Unsaturated Lipids*. Chan H. S. W. Academic press, London.
- Hinrichsen L. L. y Pedersen S. B. (1995). Relationship among Flavour, Volatile Compounds, Chemical Changes and Microflora in Italian-Type Dry-Cured Hams during processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2932-2940.
- Im S., Hayakawa F. y Murata T. (2004). Identification and sensory evaluation of volatile compounds in oxidized porcine liver. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 300-305.
- Jurado, A. Evolución de compuestos relacionados con el sabor y el aroma del jamón Ibérico de distintas calidades durante su procesado. 2005. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura, España.
- Kandler O. (1983). Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 49, 209-224.
- Kondjoyan, N. y Berdagué, J. L. In *Compilation of Relative Retention Indices of the Analysis of Aromatic Compounds*. Publisher: Laboratoire Flaveur, station de recherches sur la viande, INRA; Theix, France. 1996.
- Larsen A. G. y Frisvad J. C. (1995). Characterization of volatile metabolites from 47 *Penicillium* taxa. *Mycological Research*, 10, 1153-1166.
- López M. O., de la Hoz L., Cambero M. I., Gallardo E., Reglero G. y Ordoñez J. A. Volatile Compounds of dry hams from Iberian pigs. (1992) *Meat Science*, 31, 267-277.
- Luna G., Aparicio R y García-González D.L. (2006). A tentative characterization of white dry-cured hams from Teruel (Spain) by SPME-GC. *Food Chemistry*, 97, 621-630.
- Martín A., Córdoba J. J., Benito M. J., Aranda E., y Asensio M. A. (2003). Effect of *Penicillium crysogenum* and *Debaryomyces hansenii* on the volatile compounds during controlled ripening of pork loins. *International Journal of Food Microbiology*, 84, 327-338.

- Martín A., Córdoba J. J., Aranda E., Córdoba M. G. y Asensio M. A. (2006). Contribution of selected fungal population to the volatile compounds on dry-cured ham. *International Journal of Food Microbiology*, en prensa.
- Maarse H., Visscher C. A., Willemsens L.C. y. (1989). En: Volatile compounds in food. Qualitative and Quantitative data. Boelens L.H VOL 1. TNO-CIVO Food Analysis Institute, Zeist (Holanda), 299-303.
- Mateo J. y Zumalacárregui J. M. (1996). Volatile compounds in chorizo and their changes during ripening. *Meat Science*, 44, 255-273.
- Min D. B. S., Ina K., Peterson R. J. y Chang S. S. (1977). The alkylbenzenes in roast beef. *Journal of Food Science*, 42, 503-505.
- Meynier A., Novelli E., Chizzolini R., Zanardi E. y Gandemer G. (1999). Volatiles compounds of comercial Milano salami. *Meat Science*, 54, 175-183.
- Montel M. C., Masson F. y Talon R. (1998). Bacteria role in flavour development. *Meat Science*, 43, 111-123.
- Mottram D. S. (1998). Flavour formation in meta and meat products. A review. *Food Chemistry*, 62, 415-424.
- Muriel E. 2003. Estudio comparativo de parámetros físico-químicos y sensoriales de lomo Ibérico. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura. España.
- Muriel E., Antequera T Petrón M. J., Andrés A. AI. y Ruiz J.(2004a) Volatile compounds in Iberian dry-cured loins. *Meat Science*, 68 (3), 391-400.
- Muriel E., Antequera T Petrón M. J., Martín D. y Ruiz J. (2004b). Volatile compounds on the surface and within Iberian dry-cured loin. *European Food Research Technology*. 219, 445-451.
- Nuñez F., Rodríguez M. M., Córdoba J. J., Bermúdez M. E. y Asensio M. A. (1996). Yeast population during ripening of dry-cured Iberian ham. *International Journal of Food Microbiology*, 29, 271-280.
- NIST - National Institute of Standards and Technology database. <http://webbook.nist.gov>
- Pastorelli G., Magni S., Rossi R., Pagliarini E., Baldini P., Dirinck P., Van Opstaele, F. y Corino C. (2003). Influence of dietary fat on fatty acid composition and sensory properties of dry-cured Parma ham. *Meat Science*, 65, 571-580.
- Pripis-Nicolau L., de Revel G., Bertrand. A. y Maujean A. (2000). Formation of Flavour Components by the Reaction of Amino Acid and Carbonyl Compounds in Mild Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3761-3766.
- Ruiz J., Cava R., Ventanas J. y Jensen M. T. (1998). Headspce solid phase microextraction for the analysis of volatiles in a meat product. Dry-cured Iberian ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4688-4694.
- Ruiz J., Ventanas J., Cava R., Andrés A. I., y García C. (1999). Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the lenght of the curing process. *Meat Science*, 52, 19.27.
- Ruiz J., Ventanas J., Cava R. (2001). New Device for direct extraction of volatiles in solid simples using SPME. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5115.
- Ruiz J., García C., Muriel E., Andrés A. I. y Ventanas, J. (2002a). Influence of sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science*, 61, 347-354.

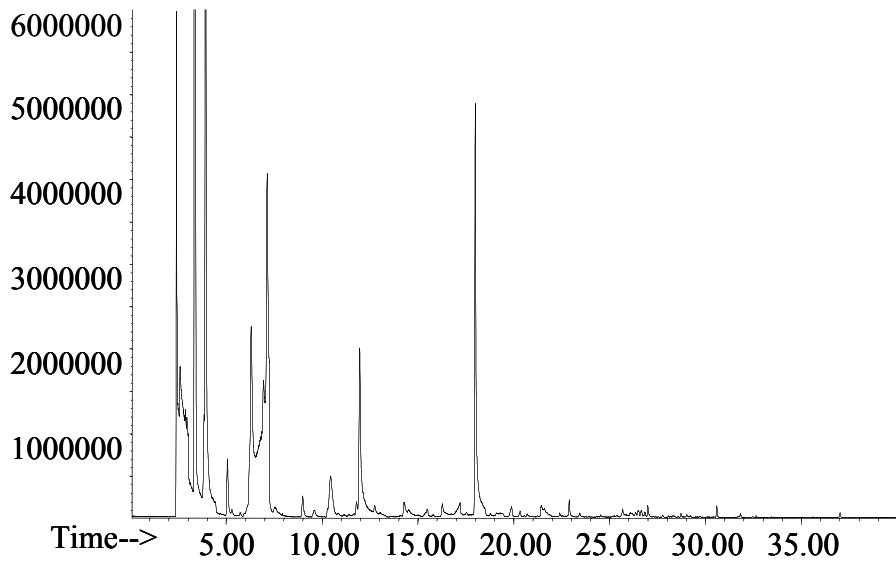
- Ruiz, J., Muriel, E.; Ventanas, J. The flavour of Iberian ham. (2002b). En *Research Advances in the Quality of Meat and Meat products*; Toldrá, F., Ed.; Research Singpost; Trivandrum Kerala, India,; pp 290-309.
- Sabio E., Vidal-Aragón M. C., Bernalte M. J. y Gata J. L. (1998). Volatiles compounds presents in six types of dry-cured hams from south European countries. *Food Chemistry*, 61, 493-503.
- Sánchez-Peña C., Luna G., García-Gózález D. L. y Aparicio R. (2005). Characterization of French and Spanish dry-cured hams: influence of the volatiles from the muscles and the subcutaneous fat quantified by SPME-GC. *Meat Science*, 69, 635-645.
- Shahidi F., Rubin L. J. y D'Souza L. A. (1986). Meat flavour volatiles : A review of the composition , techniques of analysis and sensory evaluations. *CRC Critical Review in Food Science and Nutrition*, 24, 141-243.
- Stahnke L. H. (1994). Aroma compounds from dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus*. *Meat Science*, 39, 39-53
- Stahnke L. H., Holck A., Jensen A., Nilsen A. y Zanardi E. (2002). Maturity acceleration of italian Dried Sausage by *Staphylococcus carnosus* –Relationship between maturity and Flavour compounds. *Journal of Food Science*, 67, 1914-1921.
- Tejeda J. F., Antequera T., Martín L., Ventanas J. y García C. (2001). Study of the branched hydrocarbon fraction of intramuscular lipids from Iberian fresh ham. *Meat Science*, 58, 175-179.
- Timón M. L., Ventanas J., Martín L., Tejeda J. F. y García C. (1998). Volatile compounds in supercritical carbon dioxide extracts of Iberian ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 5143-5150.
- Ventanas, J., Córdoba J. J., Antequera T., García C., López-Bote C. y Asensio M. A. (1992) Hydrolysis and Maillard Reactions During Ripening of Iberian Ham. *Journal of Food Science*. 57, 803-815.
- Viallon C., Berdagué J. L., Montel M.C., Talon R., Martín J. F., Kondoyan N. y Denoyer C. (1996). The effect of stage of ripening and packaging on volatile and flavour of dry sausage. *Food Research International*, 29, 667-674.
- Wettansinghe M., Vasanthan T., Temelli F. y Swallow K. (2001). Volatile flavour composition of cooked byproducts blends of chicken, beef and pork: a quantitative GC-MS investigation. *Food Research International*, 34, 149-158.

Figura 1. Cromatogramas (áreas cromatográficas expresadas UAA) correspondientes a la extracción mediante EC-SPME de compuestos volátiles de lomos curados en los 5 lotes estudiados (A) IBxD-CON, (B) IBxD-HOVE, (C) DxIB-HOVE (D) IB-HOVE, (E) IB-MON.

(A)

LOTE IBxD-CON

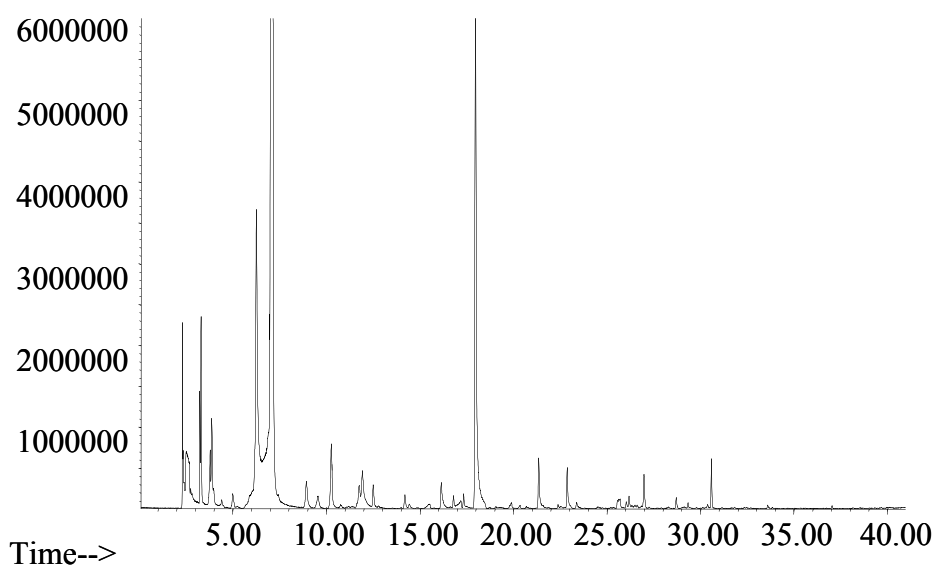
Abundance



(B)

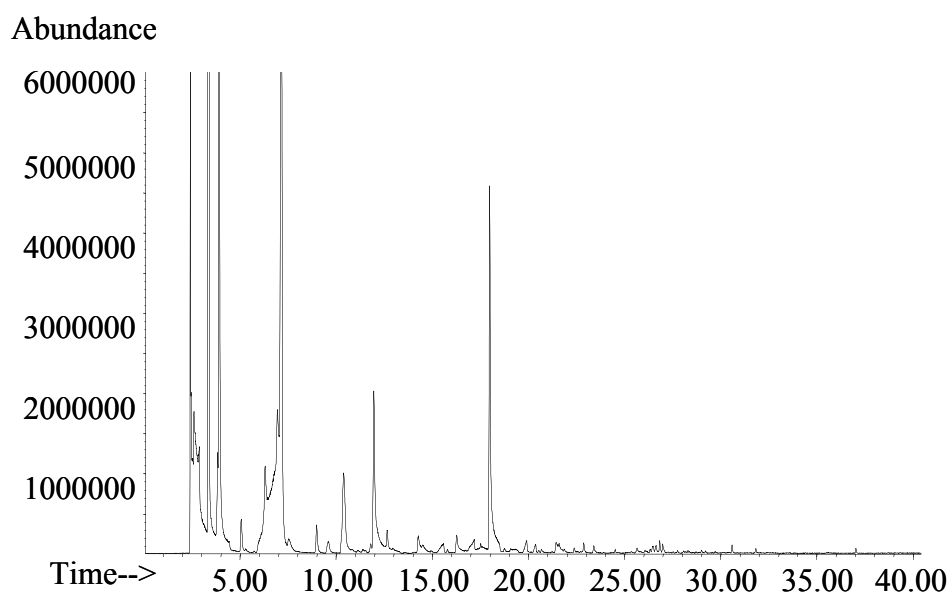
LOTE IBxD-AOVE

Abundance



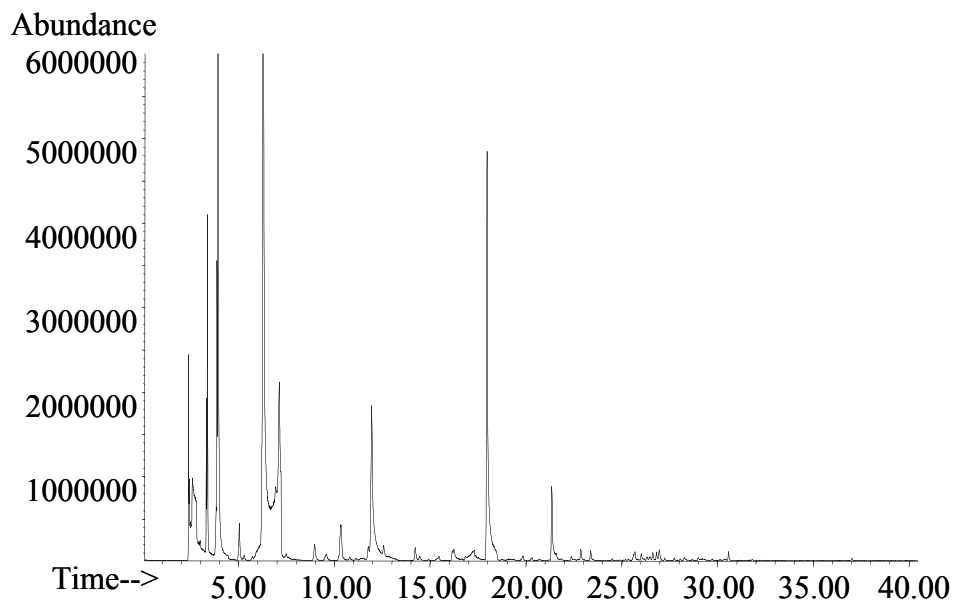
(C)

LOTE DxIB-AOVE



(D)

LOTE IB-AOVE



(E)

LOTE IB-MON

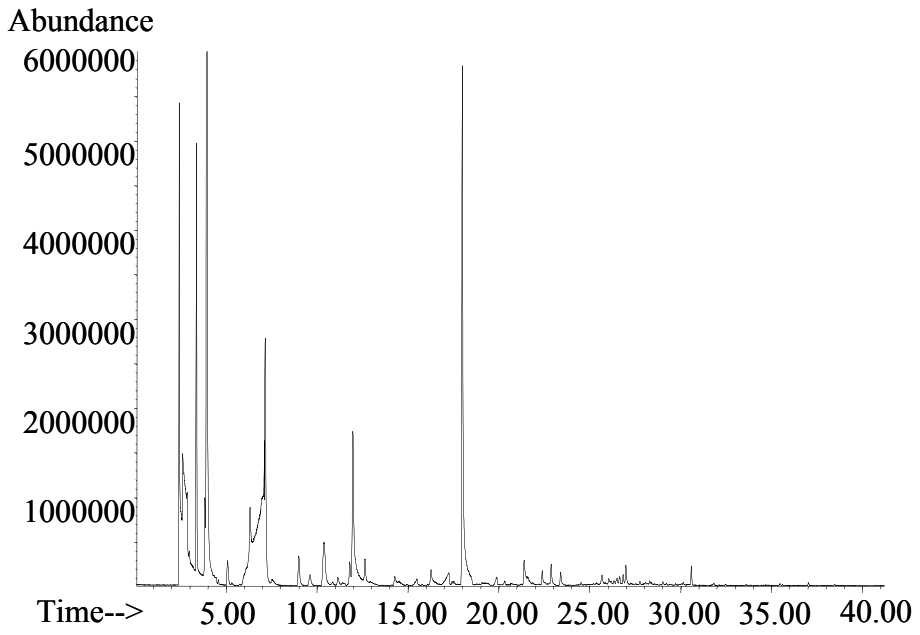
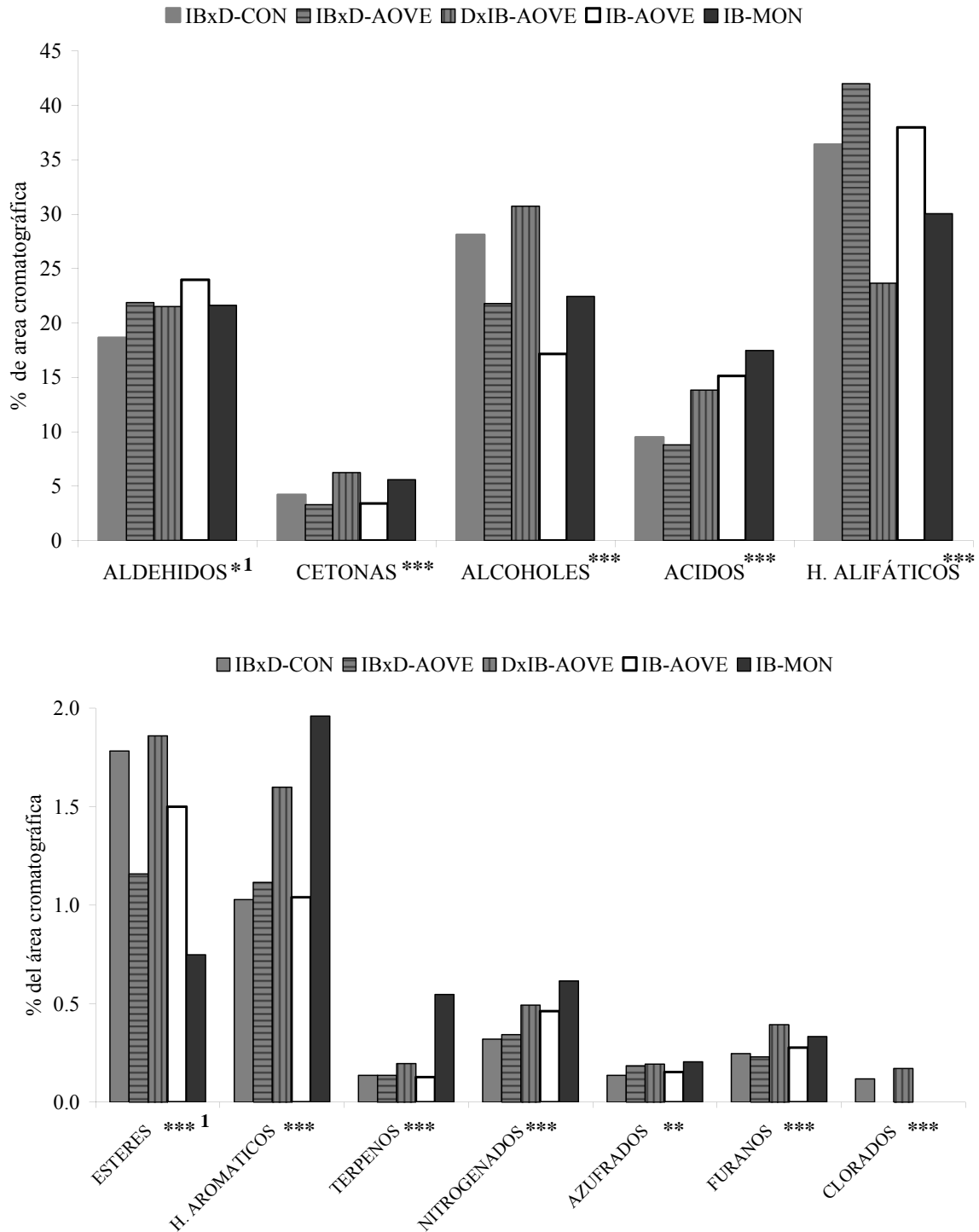


Figura 2. Diagramas de barras correspondientes a la abundancia total de las diferentes familias químicas de cada uno de los lotes estudiados, expresadas en porcentaje de área cromatográfica en cada uno de los lotes en estudio.



IB. Raza Ibérica pura. IBxD: cruce ♀Ibérico x Duroc, 50%. DxIB: cruce ♀Duroc x Ibérico, 50%. CON: pienso control. AOVE: pienso enriquecido con girasol alto oleico y suplementado con α -tocoferol. MON: montanera.

¹Nivel de significación (ANOVA): * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Figura 3. Abundancia (expresada en UAA x 10⁶) de las distintas familias químicas de compuestos volátiles identificados en lomos curados procesados incluyendo como ingredientes del adobo especias, ajo y aceite de oliva (Muriel y cols., 2004a) (con adobo: CA) y procesados sin la inclusión de dichos ingredientes (IB-MON). Ambos grupos de lomos proceden de cerdos de raza Ibérica pura explotados en el sistema tradicional de montanera.

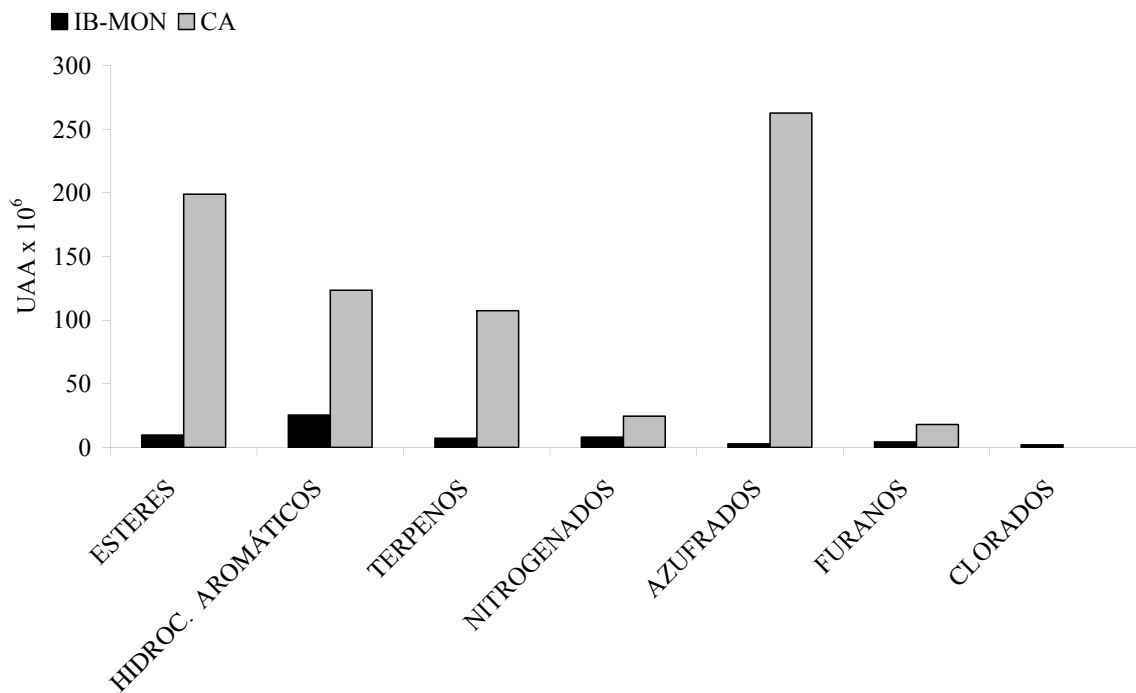
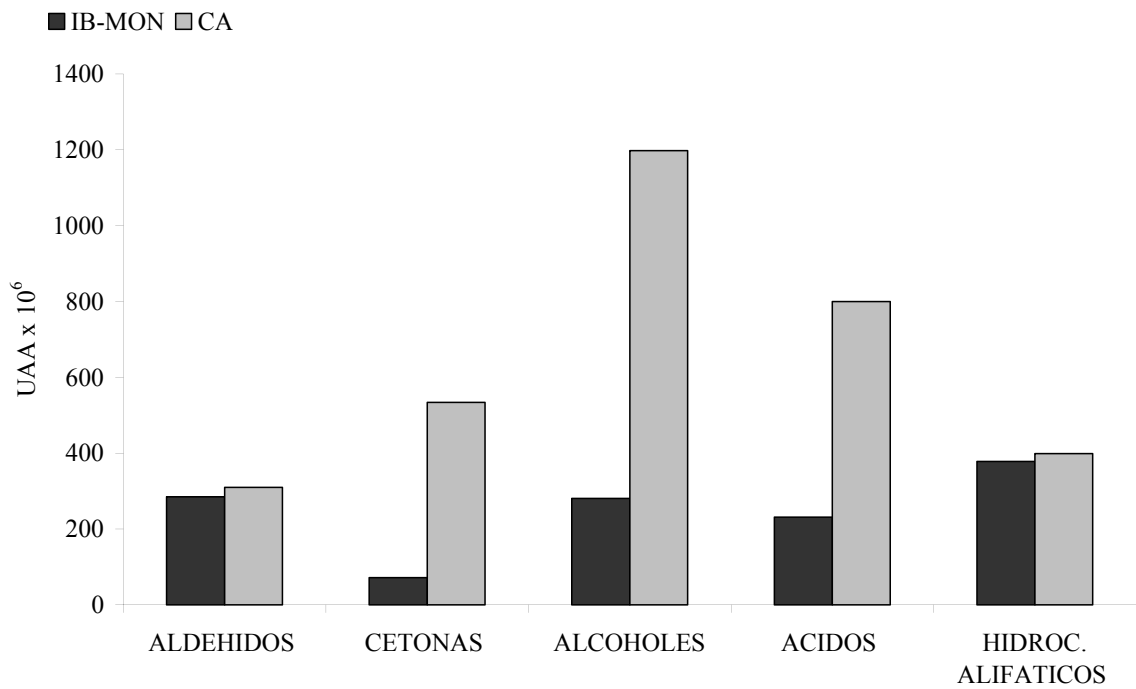


Tabla 1. Relación de compuestos volátiles detectados mediante EC-SPME-CG-EM (37°C, 30 minutos) en los lomos curados estudiados en función del lote al que pertenecen: IBxD-CON, IBxD-HOVE, IB-HOVE, DxIB-HOVE y IB-MON, y de las correspondientes áreas cromatográficas expresadas como UAA x 10⁶ (media y desviación típica entre paréntesis).

COMPUESTOS	IK ¹	ID ²	IBxD-CON	IBxD-AOVE	DxIB-AOVE	IB-AOVE	IB-MON	P ³
Etanol	<500	EM	327.37a (181.22)	250.89ab (113.20)	198.93abc (38.98)	139.63bc (27.53)	100.34c (24.89)	0.001
2-propanona	<500	EM	41.23a (11.18)	35.60a (8.53)	41.41a (13.44)	19.08b (6.21)	35.30a (12.17)	0.001
Pentano	500	EM	372.24ab (96.61)	513.82a (180.08)	161.29c (120.69)	354.74ab (131.35)	215.39bc (55.57)	0.000
Acetato de metilo	520	EM +ki	1.99bc (0.54)	3.09a (0.75)	1.38c (0.43)	2.41ab (0.73)	1.77bc (0.75)	0.000
Dicloro metano	527	EM + ki	2.31a (1.17)	0.00b (0.00)	1.98a (0.91)	0.00b (0.00)	1.93a (0.42)	0.000
Metil disulfuro	533	EM + ki	0.00b (0.00)	0.00b (0.00)	0.00b (0.00)	0.00b (0.00)	0.76a (0.03)	0.000
1-propanol	548	EM + ki	15.94 (5.52)	17.08 (6.30)	13.64 (4.15)	18.64 (5.06)	22.38 (8.29)	0.084
2-metilpentano	557	EM + ki	1.96 (0.90)	2.15 (0.66)	2.83 (0.95)	1.86 (0.72)	1.82 (0.60)	0.093
3-metilpentano	576	EM + ki	1.30b (0.65)	2.43a (0.77)	1.47b (0.34)	1.46b (0.41)	1.36b (0.24)	0.001
Etilacetato	585	EM +ki	23.37a (6.90)	14.54a (3.49)	15.89a (4.16)	19.55a (9.75)	5.11b (1.33)	0.000
Hexano	600	EM +ki	114.77ab (40.26)	122.28a (53.94)	66.32bc (17.22)	116.35a (22.08)	57.27c (14.92)	0.001
Acido acético	612	EM +ki	110.41 (45.48)	128.10 (66.12)	108.26 (50.18)	191.94 (82.95)	189.62 (53.35)	0.016
Cloroformo	614	EM	123.16bc (47.30)	255.31a (87.89)	91.83c (25.22)	180.22ab(25.22)	178.57b (47.90)	0.000
2-metilpropanol	621	EM +ki	8.51bc (2.28)	8.87bc (0.81)	13.79a (2.70)	10.89ab (1.91)	7.23c (1.59)	0.000
3-metilbutanal	647	EM + KI	15.87ab (1.91)	20.06a (6.62)	14.49ab (4.13)	13.55b (4.28)	13.74ab (3.77)	0.037
2-butenal (E)	658	EM +ki	8.85b (0.67)	13.08a (2.78)	7.78bc (1.62)	7.93bc (1.86)	5.92c (0.40)	0.000
1-metoxi- 2-propanol	672	EM +ki	50.80 (10.96)	56.44 (13.70)	58.55 (12.16)	52.39 (15.8)	46.03 (8.18)	0.342
1-penten-3-ol	680	EM + ki	2.56 (0.57)	3.49 (0.93)	3.24 (0.60)	3.78 (1.00)	3.13 (0.95)	0.084
2-pentanona	685	EM + KI	2.37ab (0.51)	2.17b (0.58)	2.21b (0.69)	2.29b (0.74)	3.22a (0.55)	0.013
1-heptene + ácido propanoico	690	EM +ki	2.79b (0.77)	3.04ab (0.55)	3.25ab (0.81)	4.12a (1.13)	2.32b (0.79)	0.004
Pentanal	697	EM + KI	8.02b (1.72)	20.45a (4.18)	8.68b (2.93)	17.88a (2.74)	10.16b (2.50)	0.000
Heptano	700	EM + ki	121.49a (36.62)	165.48a (66.59)	38.63b (4.43)	166.30a (71.35)	92.75ab (57.34)	0.000
3-hidroxi-2-butanona	711	EM + ki	10.18c (1.38)	12.02bc (2.15)	13.36bc (3.49)	20.43a (7.35)	18.08ab (3.25)	0.000

3-metil-1-butanol	737	EM +ki	10.84ab (1.69)	10.04b (2.62)	14.30a (3.42)	12.98ab (2.35)	11.93ab (3.25)	0.033
2-metil-1-butanol	741	EM +ki	3.89b (0.30)	5.20b (1.42)	5.19b (2.50)	8.41a (1.18)	5.04b (5.04)	0.000
Piridina + dimetildisulfuro	749	EM + KI	1.72 (0.27)	2.09 (1.28)	1.21 (0.38)	1.23 (0.23)	1.17 (0.44)	0.028
Ácido 2-metilpropanoico	760	EM +ki	9.27ab (2.51)	7.17b (1.02)	11.30a (3.72)	10.64ab (3.13)	9.17ab (2.18)	0.048
2-metilpropanoato de etilo	763	EM + ki	0.89a (0.39)	0.99a (0.27)	0.96a (0.23)	0.93a (0.15)	0.00b (0.00)	0.000
1-pentanol + tolueno	770	EM + ki	11.72b (2.04)	18.10a (3.93)	13.78b (2.36)	13.43b (2.69)	13.54b (2.48)	0.001
1,3-butanodiol	781	EM +ki	0.00c (0.00)	2.02ab (0.85)	0.00c (0.00)	2.62a (0.35)	1.46b (0.18)	0.000
Acido butanoico	788	EM +ki	15.28b (4.84)	11.39b (2.75)	13.85b (4.0)	22.00a (6.27)	9.70b (2.84)	0.000
2,3-butanodiol	790	EM + ki	0.00c (0.00)	1.86b (0.17)	0.00c (0.00)	3.18a (0.53)	0.00c (0.00)	0.000
2-hexanona	791	EM +ki	0.00c (0.00)	0.00c (0.00)	1.64a (0.37)	1.44ab (0.09)	1.18b (0.16)	0.000
Hexanal	800	EM + KI	243.75ab (86.54)	326.67a (40.68)	154.76c (72.29)	330.98a (174.39)	239.87ab (62.96)	0.010
2-hexanol	815	EM +ki	1.64 (0.40)	1.40 (0.34)	1.22 (0.31)	1.26 (0.36)	1.25 (0.24)	0.113
Acido 3-metilbutanoico	837	EM ki	10.20 (2.82)	8.72 (3.49)	10.72 (2.63)	9.25 (2.87)	9.21 (3.20)	0.696
Acido 2-metilpentanoico	845	EM + ki	3.76ab (1.24)	3.40ab (0.65)	4.96a (1.56)	3.92ab (1.50)	2.85c (0.31)	0.021
3-metilbutanoato de etilo	852	EM +ki	1.45b (0.14)	2.04a (0.34)	1.22b (0.20)	1.50b (0.26)	1.26b (0.25)	0.000
Etilbenceno	862	EM + ki	0.65b (0.21)	0.90ab (0.33)	0.85ab (0.24)	0.59b (0.08)	1.14a (0.27)	0.000
1-hexanol	867	EM +ki	23.95b (2.36)	28.42b (9.42)	16.22b (4.50)	23.87b (7.97)	56.14a (13.52)	0.000
1,4-dimetilbenceno (p-xileno)	869	EM + ki	4.55b (0.05)	2.67c (1.30)	3.42bc (0.90)	2.90bc (0.62)	10.71a (1.36)	0.000
3-hexen-1-ol	874	EM + ki	1.38b (0.47)	1.22b (0.10)	1.21b (0.17)	3.10a (1.57)	1.70b (0.35)	0.000
2-heptanona	884	EM + KI	2.30 (0.61)	3.20 (1.42)	2.57 (0.72)	2.99 (1.17)	3.59 (0.88)	0.119
2-butilfuran	887	EM + ki	1.21 (0.14)	1.68 (0.64)	1.61 (0.37)	1.77 (0.60)	1.61 (0.50)	0.225
Heptanal	894	EM + KI	8.31b (2.93)	16.84a (7.07)	5.61b (0.59)	7.87b (3.46)	7.45b (2.47)	0.000
2,6-dimetilpirazina	906	EM +ki	3.87c (1.35)	4.62bc (0.44)	4.27c (1.48)	5.93ab (0.79)	6.78a (0.98)	0.000
α -pineno	936	EM + ki	1.11b (0.18)	1.29b (0.10)	1.28b (0.31)	1.14b (0.31)	3.80a (0.72)	0.000
2-heptenal (E)	955	EM + KI	0.93b (0.21)	1.82a (0.68)	1.06b (0.16)	1.09b (0.27)	0.94b (0.21)	0.000
Benzaldeido + Acido hexanoico	965	EM + KI	7.70ab (1.61)	8.22a (1.60)	5.67b (1.05)	8.14a (1.99)	7.64ab (0.92)	0.014
1-octen-3-ol	978	EM + KI	3.02ab (0.78)	3.50ab (0.65)	2.88b (2.62)	3.18ab (0.96)	4.13a (0.72)	0.024
2,3-octanodiona	982	EM +ki	1.31b (0.15)	3.64a (1.76)	1.69b (0.37)	2.16b (0.88)	1.14b (0.25)	0.000

6-metil-5-hepten-2-ona	986	EM +ki	2.19 (0.86)	2.24 (0.80)	1.97 (0.20)	2.15 (0.59)	2.69 (0.53)	0.290
2-octanona + siloxano	991	EM +ki	3.23ab (0.83)	2.80bc (0.59)	3.95a (1.08)	2.04c (0.38)	3.92a (0.27)	0.000
2-pentilfurano	994	EM + ki	2.99 (1.02)	2.87 (0.85)	2.91 (1.15)	2.90 (0.63)	2.68 (0.44)	0.965
Hexanoato de etilo	997	EM +ki	0.51b (0.18)	0.96a (0.34)	0.50b (0.21)	0.42b (0.21)	0.22b (0.08)	0.000
Decano	1000	EM +ki	2.21c (0.64)	4.39ab (1.75)	3.31bc (1.89)	2.76bc (0.85)	5.51a (0.77)	0.000
Octanal	1004	EM + KI	7.28b (0.64)	13.01a (4.36)	5.80b (1.14)	8.07b (0.230)	6.40b (0.87)	0.000
Acetato de hexilo	1011	EM +ki	1.05 (0.19)	1.07 (0.23)	0.98 (0.28)	0.96 (0.42)	1.26 (0.18)	0.183
Δ -3-carene	1019	EM ki	0.48b (0.10)	0.65b (0.19)	0.48b (0.11)	0.53b (0.12)	2.06a (0.52)	0.000
Alcano ramificado	1025	EM + ki	1.17a (0.43)	1.19a (0.35)	1.16a (0.35)	0.96a (0.41)	0.34b (0.02)	0.000
2-etil-1-hexanol	1034	EM +ki	0.97b (0.17)	1.25b (0.42)	0.94b (0.23)	1.12b (0.34)	3.94a (1.09)	0.000
Limoneno	1037	EM +ki	0.65b (0.14)	0.70b (0.11)	0.44c (0.07)	0.44c (0.10)	1.25a (0.22)	0.000
3-octen-2-ona	1040	EM + ki	1.28ab (0.23)	1.67a (0.23)	1.22b (0.17)	1.34ab (0.28)	1.57ab (0.44)	0.016
Fenilacetaldéhid	1051	EM + KI	1.24ab (0.30)	1.59a (0.28)	0.84b (0.12)	1.27ab (0.21)	1.57a (0.62)	0.001
2-metildecano	1059	EM +ki	1.15b (0.28)	2.14a (0.97)	1.39b (0.22)	1.80ab (0.36)	1.17b (0.19)	0.001
1-octanol	1069	EM +KI	1.25ab (0.17)	1.70a (0.44)	1.55ab (0.23)	1.03b (0.53)	1.36ab (0.32)	0.011
2-nonanona	1090	EM + KI	1.39a (0.25)	0.77b (0.13)	1.05ab (0.32)	1.06ab (0.37)	0.99b (0.12)	0.001
Nonanal	1103	EM + ki	4.80b (0.63)	10.69a (4.75)	4.61b (1.53)	5.25b (1.64)	4.56b (0.59)	0.000
Bencenoetanol	1123	EM + ki	0.60c (0.03)	0.65c (0.04)	0.95b (0.08)	0.58c (0.05)	1.24a (0.10)	0.000
Acido octanoico + 2-nonenal (E)	1164	EM + ki	0.67b (0.13)	1.45a (0.70)	0.93b (0.11)	1.09ab (0.17)	0.71b (0.12)	0.000
1,1-thiobisbenceno	>1200	EM	0.55c (0.03)	1.51a (0.46)	0.94bc (0.08)	1.40ab (0.64)	0.81c (0.10)	0.000
Σ TOTAL VOLATILES			1542.69ab (301.72)	1810.65a (279.81)	1052.60c (203.57)	1573.51ab (446.62)	1222.79bc (166.21)	0.000

¹IK: índice de Kovats

² ID: método de identificación. EM: espectro de masas coincide con los existentes en la librería Wiley; IK: el IK coincide con el estándar analizado en las mismas condiciones cromatográficas; ik: el espectro de masas y el IK coincide con los consultados en la base de datos del NIST y/o en la bibliografía consultada.

³p: p<0.05 indica diferencias significativas entre lotes para la variable (compuesto) en estudio. Celdas con diferentes letras en la misma fila difieren significativamente (p<0.05).

DISCUSIÓN CONJUNTA

I. Variaciones en las características de la materia prima (músculo *L.dorsi*) claves para la clasificación y la calidad los productos derivados del cerdo Ibérico (lomo curado)

I.1. Clasificación

Las limitaciones presentadas por el método oficial establecido por la Norma de Calidad (BOE, 2001) de clasificación de la materia prima en función de la alimentación, basado en el análisis mediante cromatografía de gases de la composición en ácidos grasos del tejido adiposo, se han achacado principalmente a la imposibilidad de diferenciar materia prima procedente de cerdos explotados en intensivo con piensos alto oleico de aquella procedente de cerdos explotados en régimen de montanera. En los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral cabe destacar, que algunos animales incluidos en el lote IB-AOVE fueron clasificados en el grupo de alimentación de bellota siguiendo los límites establecidos para los cuatro ácidos principales (BOE, 2004). Además, de igual modo, animales de montanera (lote IB-MON) quedaron excluidos de este grupo. Por tanto, aunque en líneas generales este método de análisis permitió diferenciar cerdos cebados en intensivo con piensos compuestos (IBxD-CON) de cerdos de montanera (IB-MON), el aporte de fuentes ricas en AGMI, principalmente en ácido oleico (C18:1 n-9), permitió obtener un perfil en ácidos grasos del tejido subcutáneo muy difícil de diferenciar del de montanera. Sin embargo, la incorporación como método de clasificación de la detección del hidrocarburo neofitadieno y del γ -tocoferol permitió distinguir a los animales de montanera del resto de lotes cebados en intensivo. En este sentido, coincidiendo con los resultados descritos previamente por otros autores (Tejeda y cols., 2001; Daza y cols., 2005; Rey y cols., 2006), la detección de ambos compuestos se limita al tejido adiposo y muscular respectivamente de cerdos alimentados con hierba y bellotas, de manera que se confirman cómo métodos complementarios a la composición en ácidos grasos mediante cromatografía de gases. La velocidad de ultrasonidos en la grasa subcutánea igualmente resultó una metodología apropiada para diferenciar el lote de montanera (IB-MON) del resto de lotes, y además a determinadas temperaturas (2 y 8°C) permitió igualmente diferenciar los tres lotes AOVE en función de la genética de los animales (Ibéricos puros frente a cruzados con Duroc). Por último, igualmente el contenido en GIM del músculo *L. dorsi* fue superior en los músculos de animales de raza Ibérica pura independientemente de la alimentación durante la fase de cebo, pudiéndose diferenciar mediante este parámetro de los cruzados con Duroc, consecuencia del carácter adipogénico de la raza Ibérica (López Bote, 1998).

I.2. Calidad

El primero de los objetivos descritos al inicio de la presente Tesis Doctoral planteaba el estudio de la influencia de la genética y de la alimentación recibida por los animales durante el periodo de cebo sobre aquellas características de la grasa intramuscular de la carne fresca del lomo Ibérico determinantes de la calidad del producto final. Partiendo de una visión global de los resultados obtenidos en los diferentes capítulos se pueden hacer las siguientes consideraciones.

La genética de los animales fue el factor que influyó en mayor medida en el contenido en GIM tanto del músculo *l. dorsi* como del lomo curado. En este sentido, hay que destacar que en ningún estudio anterior realizado bien con diferentes músculos o bien con el producto final de cerdos de raza Ibérica pura y de cerdos cruzados con Duroc (Antequera y cols., 1994; Andrés y cols., 2001; Tejeda y cols., 2002; Petrón y cols., 2003), se ha evidenciado de forma tan clara y de manera tan pormenorizada la influencia de la genética sobre el contenido en GIM.

El estudio de la influencia de la genética de los animales se planteó desde dos puntos de vista diferentes. Por una parte, evaluar las diferencias en la calidad de la materia prima debidas al empleo de animales de raza Ibérica pura frente a cruzados con Duroc. En segundo lugar establecer si el empleo como línea materna en el cruce con Duroc de la raza Ibérica pura, exigido por la Norma de Calidad (BOE 2001) para calificar a los productos derivados como “de Ibérico”, confería a la materia prima y en consecuencia al producto final unas características de calidad diferentes a las obtenidas cuando la raza de la línea materna empleada en dicho cruce era la raza Duroc. Si bien éste último aspecto, el tipo de cruce, no influyó sobre el contenido en GIM, los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que los lotes derivados cerdos de raza Ibérica pura (IB-AOVE e IB-MON) presentaban unos niveles de GIM, tanto en el músculo *l. dorsi* como en el lomo curado, superiores a los obtenidos para los lotes de cerdos cruzados. Estos resultados parecen confirmar el marcado carácter adipogénico de esta raza (López-Bote, 1998) lo que se traduce en altos niveles de GIM en el tejido muscular, en comparación con otras razas porcinas seleccionadas como la raza Landrace y la raza Large-White. En este sentido, algunos autores (Morales y cols., 2002; Freire y cols., 1998) han observado una mayor actividad de determinadas enzimas lipogénicas en los músculos de cerdos Ibéricos en comparación con los de cerdos de las razas anteriormente citadas. En concreto en un estudio reciente realizado por Carrodegua y cols. (2005) sobre muestras de los mismos lotes empleados en la presente Tesis Doctoral, se evidenció diferencias en la mutación del

factor IGF2 (insulin-like growth factor) relacionado con las síntesis de tejido muscular y con el contenido en tejido graso. En líneas generales, de los tres genotipos posibles (mutación GG, AG o AA) todos los animales de raza Ibérica pura fueron homocigóticos G/G, mientras que todos los cruzados con la raza Duroc fueron heterocigóticos A/G excepto uno de los animales que fue homocigótico A/A.

Diferentes aspectos relacionados con la calidad de la materia prima y con el procesado se vieron influidos por el mayor contenido en GIM presentado por los músculos *l. dorsi* de los lotes de cerdos de raza Ibérica pura, entre los que destaca la susceptibilidad oxidativa, la evolución en el porcentaje de mermas, diferentes aspectos relacionados con la calidad nutricional y sensorial del producto final, así como la aceptabilidad de los consumidores. Así, el estudio realizado sobre el músculo *l. dorsi* para evaluar la susceptibilidad a la oxidación (capítulo I), puso de manifiesto que los mayores niveles de GIM de los músculos de los lotes de cerdos de raza Ibérica pura determinaron en parte los significativos ($p < 0.05$) menores valores de manolaldehído (MDA) obtenidos para estos lotes en la prueba de la peroxidación inducida (minuto 200). Los músculos de los lotes IB-AOVE e IB-MON con un mayor contenido en GIM, presentarán proporcionalmente menores niveles de fosfolípidos de membrana y por tanto una menor susceptibilidad a la oxidación ya que tanto la iniciación como la propagación de la oxidación lipídica tienen lugar principalmente en estos fosfolípidos de membrana (Igene y Pearson, 1979). Estos resultados coinciden con las observaciones realizadas por otros autores (Mason y cols., 2005; Nilzen y cols., 2001) que describieron una mayor susceptibilidad oxidativa en los músculos de cerdos que presentaban canales con un menor contenido graso. Además de los mayores niveles de AGPI de los fosfolípidos, la presencia de compuestos antioxidantes como el α -tocoferol modularon las reacciones de oxidación, como se describirá posteriormente.

A lo largo del procesado de los lomos, uno de los factores que estuvo en parte influido por el contenido en GIM de las piezas fue el porcentaje de mermas acumuladas. En este sentido, el coeficiente de difusividad del agua en el magro disminuye al incrementar el contenido graso (Gou y Comaposada, 1997). De esta forma tanto la difusión del agua del interior de las piezas hacia la superficie de las mismas durante el procesado, como su posterior evaporación al ambiente están estrechamente relacionadas con el porcentaje graso de las piezas. Los resultados obtenidos relativos al porcentaje de mermas de los lomos durante la fase de secado-maduración confirman en parte dicha relación con el contenido en GIM (capítulo III). De los lotes que presentaban un mayor contenido en GIM, ambos

derivados de cerdos de raza Ibérica pura, el lote IB-MON fue el lote que reflejó en mayor medida el efecto descrito del contenido graso sobre la deshidratación de las piezas, con porcentajes de mermas finales del 39%, mientras que para el resto lotes superaron en todos los casos el 45% de mermas finales. No obstante, también habría que señalar que, contrariamente a los resultados obtenidos para el lote IB-MON, las mermas a lo largo del procesado para los lomos del lote IB-AOVE, a pesar de presentar igualmente un elevado contenido en GIM, fueron superiores a las obtenidas por los lomos del lote IB-MON y similares a los valores presentados por el resto de lotes con menor contenido en GIM. En este sentido, parece que el hecho de que el peso inicial de los lomos del lote IB-MON fuera inferior al del resto de lotes pudo tener una cierta influencia sobre la evolución de los porcentajes de mermas. No obstante, en el capítulo VII, en el que se consideraron lomos de diferente contenido en GIM (bajo y alto), pero de similar peso inicial y procedentes de animales con igual alimentación, los resultados obtenidos en relación al porcentaje de mermas confirman la influencia de este parámetro en la dinámica de deshidratación de las piezas durante el procesado. Los lomos del grupo de alto contenido en GIM presentaron un porcentaje de mermas a lo largo de la fase de secado-maduración inferior a los de bajo contenido en GIM. En concreto, los primeros presentaron unas mermas finales en torno al 40% mientras que los de bajo contenido en GIM superaron el 45% de mermas finales. Por tanto, los lomos con mayor contenido en GIM necesitarían más tiempo para alcanzar un porcentaje de mermas acumuladas similar a lomos con menor contenido graso. Esta consideración sería de enorme interés para los industriales del sector puesto que podrían predecir, en función del contenido en GIM, el tiempo necesario para alcanzar un determinado porcentaje de mermas. Es más, la menor velocidad de merma asociada a mayores niveles de GIM resulta un hecho de especial interés para los industriales, ya que una merma lenta y controlada se asocia a una menor aparición de problemas tecnológicos durante el procesado de los lomos (acanalamiento, encostramiento), permitiendo además conseguir una maduración de 80 días sin llegar a grados de deshidratación excesivos (en ocasiones, el industrial se ve obligado a envasar a vacío los lomos con 50-60 días de maduración para conseguir llegar a los 80 días establecidos, evitando una excesiva deshidratación).

La presencia de colesterol en la dieta humana está estrechamente relacionada con los alimentos de origen animal, puesto que todos ellos presentan colesterol al ser un componente esencial de las membranas de las células animales (Lehninger., 1984). Como se ha indicado anteriormente, músculos con un elevado contenido en GIM, presentan

proporcionalmente un menor contenido de lípidos polares de membrana y por tanto en principio también de colesterol asociado a dichas membranas (Alasnier y cols., 1996). El incremento de los niveles de GIM se produce principalmente como consecuencia un incremento del número de gotas de grasa (lípidos neutros) en el interior de las células grasa o adipocitos y no en incrementos del número de células y por tanto de membranas celulares, lo que supondría más fosfolípidos y colesterol asociado. No obstante, esta relación inversa entre el contenido en GIM y colesterol no está tan clara. De hecho, se ha descrito que para la GIM el 55% del colesterol se localiza en el citoplasma y el resto en las membranas celulares, mientras que para el tejido subcutáneo el 10% se localiza en las membranas y el 90% en el citoplasma (Kinney Sweeten y cols.1990). Esta teoría explicaría que en el tocino, que presenta un elevado contenido en triglicéridos, el contenido en colesterol fuera mayor comparado con el obtenido para el lomo curado (67.37 mg 100 g⁻¹ vs 43.50 mg 100 g⁻¹ de muestra). En la presente Tesis Doctoral, tanto para el músculo *L. dorsi* como para el lomo curado, no se encontraron correlaciones significativas entre el porcentaje de GIM y el contenido en colesterol en mg 100 g⁻¹, lo que confirma que un alto contenido de GIM no siempre implica niveles de colesterol elevados, coincidiendo con los resultados descritos previamente por otros autores (Lewis y cols., 1993; Chizzolini y cols., 1999; Petrón y cols., 2003).

En un último apartado debemos considerar la influencia del contenido en GIM de los lomos sobre las características del producto final. En líneas generales, coincidiendo con estudios realizados en jamón Ibérico (Ruiz y cols., 2000; Ruiz y cols., 2002) y en lomo Ibérico (Muriel y cols. 2004), los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral confirmarían la influencia marcada del contenido en GIM sobre los atributos sensoriales relacionados con la apariencia de los lomos (brillo, intensidad y características del veteado), con la textura (jugosidad, sequedad, fibrosidad y dureza) de los mismos, así como el efecto positivo que tiene en la aceptabilidad global de este producto por los consumidores. De nuevo, considerando que el contenido en GIM viene determinado por la genética de los animales, hay que resaltar que nunca en trabajos previos se había constatado de una forma tan clara y evidente diferencias en la calidad sensorial entre productos de cerdos de raza Ibérica pura y cruzados con Duroc. Por otra parte, la exigencia por parte de la Norma de Calidad de que la línea materna sea de raza Ibérica pura, estaría justificada desde el punto de vista de la conservación del patrimonio genético pero no porque existan diferencias en la calidad sensorial del producto final como se confirma en los resultados obtenidos para los atributos sensoriales en la presente Tesis Doctoral.

El panel de catadores entrenados otorgó a los lomos de los lotes de cerdos de raza Ibérica pura (IB-AOVE y IB-MON) y por tanto los de mayor porcentaje en GIM, las puntuaciones más elevadas para el brillo, las características del veteado (intensidad, tamaño y grosor de las vetas) y la jugosidad y los menores para la dureza, la fibrosidad y la sequedad. Estos resultados junto con los obtenidos para el Análisis de Componentes Principales (ACP) y los coeficientes de correlación de Pearson (R^2) ponen de manifiesto la clara relación e influencia del contenido en GIM sobre los atributos de apariencia y textura de los lomos, coincidiendo con estudios previos realizados en jamón Ibérico (Cava y cols., 2000; Ruiz y cols., 2000; Jurado y cols., 2003). Además, en el ACP, los lomos procedentes de los lotes IB se localizaron cerca de la jugosidad y el grado de veteado, atributos relacionados positivamente con el contenido en GIM. Teniendo en cuenta que este estudio se realizó utilizando un análisis sensorial descriptivo, únicamente aporta información sobre la mayor o menor intensidad de un atributo sensorial en los lomos evaluados, así como las diferencias existentes entre los distintos lotes. No obstante, considerando los resultados en conjunto se puede afirmar que los atributos de veteado y jugosidad, ambos determinados por el contenido en GIM, son los que caracterizarían mejor a lomos curados de raza Ibérica pura.

Los resultados obtenidos en el estudio realizado con consumidores no entrenados (estudiantes, profesorado y personal de la Universidad) (capítulo V) mostraron cómo el contenido en GIM presenta una influencia positiva en la preferencia mostrada por los consumidores en relación a la jugosidad y a la aceptabilidad de los lomos curados. En términos generales, las puntuaciones de preferencia y jugosidad otorgadas por los consumidores fueron mejores cuanto mayor fue el contenido en GIM de los lomos evaluados, coincidiendo con parte de los resultados descritos por Cilla y cols. (2006) en jamones curados. Además, uno de los aspectos más destacados fue la diferencia existente en función de la edad de los consumidores, siendo los mayores de 25 años los que presentaron una preferencia más clara por los lomos de mayor contenido en GIM. Estas consideraciones relativas a la edad son novedosas, interesantes e importantes a la hora de considerar el potencial mercado de consumidores de los productos derivados del cerdo Ibérico.

De las dos variables evaluadas en el test de consumidores, preferencia y jugosidad, ésta última fue la que estuvo influida de una manera más clara por el contenido en GIM, puesto que gran parte de los consumidores clasificaron los lomos de alto contenido en GIM como los más jugosos. De estos resultados podemos establecer tres conclusiones importantes. En

primer lugar se confirma el papel decisivo del contenido en GIM sobre la jugosidad de los lomos curados, puesto que al presentar un escaso contenido en humedad, la jugosidad depende principalmente de la estimulación de la secreción salivar por acción de la GIM (Dikeman, 1987). Este decisivo papel de la GIM sobre la jugosidad, podría explicar que las diferencias en el contenido en GIM de los lomos evaluados (bajo, medio y alto) determinarían mayores diferencias en la clasificación de la jugosidad que en la de la preferencia. En segundo lugar, el significativo ($p < 0.01$) y positivo coeficiente de Spearman ($R^2 = 0.492$) obtenido entre la preferencia y la jugosidad permite afirmar que los lomos de mayor contenido en GIM y por tanto los más jugosos, son igualmente los preferidos por los consumidores, principalmente los mayores de 25 años, y en definitiva los considerados como de mejor calidad. Por último, señalar que las diferencias en función de la edad del consumidor probablemente estén asociadas a la mayor experiencia y a un consumo más generalizado de este tipo de productos por los individuos mayores de 25 años, mientras que para los menores de 25, las nuevas tendencias de consumo hacia productos de bajo contenido graso podrían haber repercutido en el grado de preferencia por estos productos.

II. Cambios físico-químicos y desarrollo de las reacciones de oxidación y de degradación de Strecker durante el procesado

Durante el procesado de los lomos tienen lugar una serie de modificaciones físico-químicas de las piezas, así como el desarrollo de una serie de reacciones químicas y bioquímicas favorecidas por las condiciones de temperatura y humedad relativa, que van a determinar en gran medida, junto con las características de la materia prima la calidad final del lomo curado. En concreto, desde el punto de vista de la composición química se observan modificaciones en el contenido acuoso y lipídico principalmente. Por otra parte, en los productos del cerdo Ibérico es importante el balance entre los compuestos formados durante el procesado consecuencia de las reacciones de oxidación lipídica y aquellos derivados de otras reacciones secundarias de condensación tipo Maillard o degradación de Strecker de aminoácidos.

En todos los lotes se observó un incremento del porcentaje de mermas acumuladas a lo largo del tiempo de secado-maduración de los lomos. Estas pérdidas de peso por deshidratación de los lomos durante el procesado serían consecuencia de dos fenómenos diferenciados. Por una parte, durante el salado de las piezas, la presencia de elevadas concentraciones de sal en el exterior de los lomos propicia la difusión de la sal y otros solutos al interior, y paralelamente una cierta deshidratación osmótica por salida de agua

hacia la zona de mayor concentración de solutos (el exterior del lomo) (Andrés y Ruiz, 2001). La deshidratación es cuantitativamente más importante durante el proceso de secado-maduración, ya que debido al paulatino incremento de la temperatura y a las condiciones de humedad relativa de las cámaras, se produce una constante evaporación del agua de la superficie de los lomos (Cava y Ventanas, 2001). Así, siempre que las cámaras presenten un HR inferior a la actividad de agua (a_w) del producto, el agua presente en la superficie de las piezas tenderá a pasar al ambiente, llevando a una progresiva deshidratación de las piezas (Arnau y cols., 2003). De esta forma se llegó hasta unas mermas finales que superaron el 40% en todos los lotes. No obstante, actualmente las industrias dedicadas a la elaboración de productos curados suelen dar salida al mercado lomos curados con un porcentaje de mermas en torno al 35%, cuando estos productos se destinan al consumo doméstico, mientras que cuando el destino es la hostelería o la restauración se suelen alcanzar % de mermas mayores, en torno al 40%. En la presente Tesis Doctoral se observó cómo para todos los lotes estudiados ya a los 60 días de maduración las mermas presentadas alcanzaban los valores de 35-40%. De forma que, si bien los tiempos mínimos de maduración exigidos por la Norma de Calidad son de un mínimo de 80 días, estos resultados muestran que desde el punto de vista de la dinámica de deshidratación de las piezas, la reducción de estos tiempos de procesado no resultaría un obstáculo en lo referente a la consecución de las mermas finales deseadas que los industriales se fijan como objetivo.

La alimentación y el sistema de explotación de los animales durante la fase de cebo y la genética de los mismos determinaron los resultados obtenidos relativos a los fenómenos de oxidación lipídica y proteica, evaluados en el músculo *l. dorsi* y en el lomo curado. Dos fueron los factores que determinaron en mayor medida la evolución de este tipo de reacciones en los distintos lotes: las características de los fosfolípidos (en relación principalmente a su contenido en AGPI), cómo factor prooxidante, y la presencia de compuestos antioxidantes como el α -tocoferol. En el caso del lote procedente de cerdos Ibéricos puros de montanera (IB-MON), el menor contenido en AGPI de los fosfolípidos, pero sobre todo la presencia destacada de determinados compuestos con actividad antioxidante, como el α - y el γ -tocoferol así como otros compuestos no detectados en la presente Tesis Doctoral pero cuya presencia se ha descrito en las bellotas y en la hierba (carotenoides, flavonoides, polifenoles) (Cantos, y cols. 2003; González y cols., 2004) contribuyeron a frenar los procesos oxidativos en este lote, lo que se tradujo en menores niveles de MDA así como de compuestos carbonilo productos de las reacciones de

oxidación lipídica y proteica respectivamente. Además, la suplementación de los piensos con α -tocoferol a niveles de 250 ppm, se confirma como una adecuada estrategia para frenar los fenómenos oxidativos en el músculo *l. dorsi*, como demuestran los inferiores niveles tanto de MDA como de carbonilos obtenidos para los lotes suplementados con este compuesto (IB-AOVE, DxIB-AOVE y IBxD-AOVE) en comparación con los resultados obtenidos para el lote de cerdos no suplementados (IBxD-CON).

La detección de compuestos carbonilos en el lomo curado pone de manifiesto que los radicales libres responsables de las reacciones de oxidación afectan tanto a lípidos como a proteínas en los productos cárnicos curados. Del mismo modo, los resultados obtenidos en el capítulo II confirmarían la interrelación existente entre ambos fenómenos oxidativos, lipídico y proteico, en los productos cárnicos curados. Además, en este sentido habría que destacar que la presente Tesis Doctoral supone el primer estudio en el que se evalúan las reacciones de oxidación de proteínas en un producto curado (lomo) y se emplea como medida de los fenómenos oxidativos los compuestos carbonilos derivados de dichas reacciones, lo que resulta de gran interés teniendo en cuenta los inconvenientes y la variabilidad mostrada por el índice de TBA y el contenido en hexanal como medidas para evaluar la oxidación en el lomo curado.

Si bien la presencia de determinados compuesto con actividad antioxidante (α - y γ -tocoferol) presentes en el músculo *l. dorsi* contribuyeron a modular los fenómenos oxidativos, como se ha indicado anteriormente, otros factores pro-oxidantes, principalmente relacionados con la composición en ácidos grasos de la GIM determinarán igualmente el desarrollo de este tipo de reacciones y la mayor o menor presencia de compuestos derivados de dichas reacciones (volátiles y precursores de éstos) en el producto final.

Los fosfolípidos se consideran los principales precursores de los productos derivados de la oxidación lipídica como consecuencia del gran número de insaturaciones de los ácidos grasos que los constituyen, junto con el hecho de que al ser componentes estructurales de las membranas celulares, presentan una mayor exposición a agentes pro-oxidantes como determinados metales (Boylston y cols., 1996). De esta forma, modificaciones del perfil en ácidos grasos de los fosfolípidos, principalmente a través de la alimentación, modificarán la susceptibilidad de los mismos a los fenómenos oxidativos. La presencia de menores niveles de AGPI en el músculo *l. dorsi* del lote IB-MON en comparación con el resto de lotes pudo haber contribuido, junto con los factores antioxidantes anteriormente descritos y el mayor contenido en GIM, a que los valores de MDA obtenidos fueran inferiores a los

presentados por el resto de lotes. Así, en el estudio llevado a cabo en el capítulo VI de la presente Tesis Doctoral se emplearon liposomas preparados exclusivamente a partir de la fracción de lípidos polares, fosfolípidos principalmente, de los músculos *l. dorsi* de los lotes IB-MON e IBxD-CON, en los que no irían incluidos otros componentes de la membrana como tocoferoles o colesterol. En definitiva, la oxidación de estos liposomas estaría influida fundamentalmente por la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos que los constituyen, que a su vez vendrá determinada en gran medida por la alimentación. En este sentido, aquellos sistemas modelo que incluían liposomas del lote IBxD-CON presentaron en general mayores niveles de TBA que los que contenían liposomas del lote IB-MON. Estos resultados se explicarían por la mayor susceptibilidad de los fosfolípidos del músculo *l. dorsi* del lote IBxD-CON a la oxidación consecuencia de los mayores niveles de AGPI, que a su vez serían reflejo de la composición en ácidos grasos del pienso suministrado a los cerdos de este lote (pienso control, CON).

De los métodos empleados para evaluar las reacciones oxidativas en el músculo *l. dorsi* y en el lomo curado, tanto la peroxidación inducida como el contenido en carbonilos resultaron efectivos para evaluar y comprobar la actividad antioxidante del α -tocoferol. Por su parte, la peroxidación inducida, pero principalmente el índice de TBA medido en los liposomas de los sistemas modelo, permitió evaluar de forma independiente el efecto de la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos (nivel de AGPI) y en definitiva de la alimentación en el desarrollo de los procesos oxidativos.

Por otra parte, aquellos sistemas modelo que incluían tanto aminoácidos como liposomas presentaron mayores niveles de TBA que los que incluían únicamente liposomas. En este sentido, productos derivados de la oxidación de los aminoácidos presentes en los sistemas modelo, en concreto radicales libres y compuesto carbonilo (Stadman y Berlett, 1997), podrían haber interactuado con los liposomas favoreciendo su oxidación y en consecuencia incrementando los niveles de TBA detectados. La oxidación de proteínas, al igual que la de lípidos, tienen lugar mediante reacciones en las que intervienen radicales libres y en las que tienen lugar igualmente las fase de iniciación, propagación y terminación (Schaich, 1980). El posible efecto pro-oxidante de determinados productos de la oxidación de proteínas sobre los lípidos y de productos de la oxidación lipídica sobre los restos aminoacídicos de las proteínas ha sido propuesto por diversos autores (Estévez y Cava, 2004; Mercier y cols. 1998, 2004; Viljanen y cols., 2004). Esta posible interrelación entre la oxidación lipídica y proteica observada para los sistemas modelo apoyarían los

resultados descritos anteriormente en el músculo *l. dorsi* y en los lomos curados para ambos tipos de reacciones oxidativas (capítulo II).

Los resultados obtenidos en los diferentes estudios realizados en los que se evaluó el perfil de compuestos volátiles de los lomos curados durante (capítulo VII) y al final del procesado (capítulo VIII), así como el análisis de los compuestos volátiles de sistemas modelo en unas condiciones similares a las existentes durante la fase de secado-maduración de un producto cárnico (capítulo VI), confirman la importancia tanto de las reacciones de oxidación lipídica como de las reacciones de Maillard en la formación de compuestos volátiles de importancia en la calidad del producto final. Por una parte, la detección de compuestos derivados de la degradación de Strecker como el 3-metilbutanal, el 3-metilpropanal, el metanotiol, el dimetildisulfuro, el benzaldehído y el fenilacetaldehído en sistemas modelos con liposomas y aminoácidos en condiciones de esterilidad confirmarían la generación de estos compuestos sin la participación de microorganismos a temperatura ambiente (25°C) como consecuencia de la degradación aminoacídica en presencia de compuestos carbonilo, que en este caso provendrían principalmente de la oxidación lipídica (Ventanas y cols., 1992). De nuevo, la oxidación lipídica aparece como un fenómeno clave y determinante en el desarrollo de reacciones secundarias como la degradación de Strecker. De hecho, tanto en los sistemas modelo, como en el perfil de compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza de los lomos curados durante y al final del procesado, los volátiles derivados de la oxidación principalmente de los ácidos grasos insaturados de los fosfolípidos fueron los compuestos predominantes. En concreto destaca como mayoritario el hexanal.

Considerando los resultados obtenidos en un modelo de maduración “acelerada” como el que se presenta en los sistemas modelo con liposomas y aminoácidos, parece que las condiciones experimentales de temperatura (25°C), pH y factores pro-oxidantes (hierro(III)/ascorbato) que simularían las existentes durante una fase de maduración real, favorecieron inicialmente la generación de compuestos carbonilo derivados de la oxidación lipídica, lo que se vio reflejado en un incremento de las áreas correspondientes a estos compuestos en las primeras fases de incubación de los sistemas modelo. Posteriormente, disminuyó su presencia en los sistemas modelo como consecuencia de su participación en reacciones secundarias con aminoácidos, lo que derivó en un incremento de las áreas cromatográficas para los compuestos derivados de las reacciones de Strecker. En la evolución de compuestos volátiles en el producto real durante la fase de secado-maduración (días 40 y 55) (capítulo VII), se observó una tendencia similar aunque las

diferencias no fueron tan marcadas como las obtenidas en el sistema modelo. Además, estos resultados coinciden con los descritos previamente por otros autores en jamón Ibérico (Ruiz y cols., 1999; Martín y cols., 2000; Jurado, 2005), y por tanto los resultados observados en el sistema modelo confirmarían la importancia de las reacciones de oxidación como precursoras para el desarrollo de otras reacciones secundarias de importancia en los productos cárnicos curados, como la degradación de Strecker.

Por último, el procesado influyó igualmente en otros parámetros relacionados con la composición de la GIM. Coincidiendo con las observaciones realizadas previamente por otros autores en lomo curado (Muriel y cols., 2003), el contenido en GIM (expresado sobre sustancia seca) experimentó un descenso para todos los lotes durante el procesado, probablemente como consecuencia de las reacciones de degradación y oxidación lipídica. Igualmente, el contenido en colesterol experimentó una disminución como consecuencia de los fenómenos oxidación lipídica y la probable formación de óxidos de colesterol (COPs), los cuales han sido detectados en jamón Ibérico (Petrón y cols., 2003). Estos resultados se apoyarían en el hecho de que el lote que experimentó el descenso en los niveles de colesterol más acusado fue el lote IBXD-CON, que es el que presentó una mayor susceptibilidad a la oxidación en función de los resultados obtenidos en las pruebas de peroxidación inducida (capítulo II). No obstante, en este sentido hay que señalar que los niveles de COPs descritos en jamón Ibérico son muy bajos ($0.37\text{-}0.43 \mu\text{g g}^{-1}$ de 7α -hidroxicolesterol) teniendo en cuenta el tiempo tan largo de procesado. Además, la presencia de antioxidantes como el α -tocoferol pudo igualmente haber frenado estos fenómenos oxidativos como se confirma comparando los resultados obtenidos entre los lotes suplementados con 250 ppm de α -tocoferol (AOVE) y sin suplementar (lote IBxD-CON).

Por el contrario, la estabilidad presentada por el α -tocoferol, confirmada por los similares valores obtenidos en músculo y lomo curado expresado en extracto seco, así como por el γ -tocoferol a lo largo del procesado de los lomos, aseguraría su participación como factores antioxidantes durante y después del procesado de los mismos. Además, el hecho de que los valores obtenidos de α -tocoferol en el lomo curado sigan siendo superiores en los lotes AOVE (por encima de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ de muestra en los lotes AOVE frente a $2.33 \mu\text{g g}^{-1}$ de muestra en el lote IBxD-CON sin suplementar), al igual que ocurría en el músculo *l. dorsi*, confirma que los niveles de suplementación empleados en la presentes Tesis Doctoral (250 ppm) son apropiados para garantizar una adecuada estabilidad oxidativa de las piezas a lo

largo del procesado y durante posteriores manipulaciones previas a su comercialización, como loncheado y envasado.

III. Características físico-químicas, sensoriales y nutricionales del producto final

De los parámetros de composición química estudiados en el producto final, destacan los resultados obtenidos para el contenido en GIM, contenido en pigmentos hemínicos y la tasa de cloruros, que serán los que presenten una mayor repercusión en determinados atributos sensoriales del producto final.

La genética influyó sobre el contenido en GIM, siendo superior en los lomos de cerdos de raza Ibérica pura (lotes IB-AOVE e IB-MON) en comparación con los de cerdos cruzados (lotes IBxD-CON, IBxD-AOVE y DxIB-AOVE), lo que determinó que atributos sensoriales dependientes del contenido en GIM como el brillo del magro, el veteado y la jugosidad, presentaran mayores puntuaciones en los lotes IB, como se describió anteriormente. Por otra parte, el hecho de que los lomos del lote IB-MON presentaran un contenido (más de un 4.5% en e.s.) en cloruros significativamente mayor al resto de lotes, probablemente asociado a su menor peso, hizo que los catadores percibieran estos lomos como más salados otorgándoles unas puntuaciones para el atributo “sabor salado” significativamente ($p < 0.05$) superiores al del resto de lotes. Las diferencias del lote IB-MON en el contenido en cloruros en extracto seco con el resto de lotes fueron desde 0.86 puntos porcentuales con el lote IBxD-AOVE hasta 0.51 puntos porcentuales con el lote DxIB-AOVE, lo que indicaría que diferencias de menos de un 1% en la tasa de cloruros son percibidas por los catadores en productos con moderado contenido en cloruro sódico. Estos resultados coinciden con los descritos por Jurado (2005) en jamones Ibéricos, en los que el sabor salado correlacionó positivamente con el contenido en cloruros y además esta autora describió mayores puntuaciones en este atributo para jamones Ibéricos de montanera en comparación con jamones de cerdos alimentados con pienso alto oleico.

En la presente Tesis Doctoral no se encontraron correlaciones entre la coordenada a^* (eje rojo-verde) y el contenido en mioglobina de los lomos curados, lo que coincide con los resultados descritos por Carrapiso y García (2005), pero difiere de lo descrito por otros autores en carne fresca (Lindahl y cols., 2001; Estévez y cols., 2003). De los resultados obtenidos se desprende que probablemente otros factores relacionados con el grado de veteado, y por tanto con el contenido en GIM, así como con el grado de deshidratación de las piezas pudieron determinar que los lomos del lote IB-MON presentaran los menores valores de la coordenada a^* , aún cuando el contenido en pigmentos hemínicos fue

significativamente superior ($p < 0.05$) al del resto de lotes. Las menores puntuaciones obtenidas por los lomos del lote IB-MON con respecto al resto de lotes para el atributo “color rojo del magro” y las mayores puntuaciones obtenidas para los atributos “brillo del magro” y para el “tamaño y la forma de las vetas” apoyarían los resultados descritos para la coordenada a^* en este lote. De hecho, el atributo “color rojo del magro” presentó una correlación negativa y significativa con la coordenada a^* (coeficiente de correlación de Pearson $R^2 = -0.426$; $p < 0.01$).

Los atributos sensoriales relacionados con la apariencia y la textura fueron los que presentaron diferencias entre los 5 lotes de lomos curados estudiados. Puesto que muchas de estas diferencias dependen del contenido en GIM de los lomos, que a su vez estuvo determinada por la genética de los animales, este factor fue el que tuvo finalmente una mayor influencia sobre las características del perfil sensorial del lomo curado. De las correlaciones establecidas destacarían las establecidas entre aquellos atributos relacionados con las características de la GIM, en concreto el brillo, el grado de veteado, el tamaño de vetas y la forma de las vetas. De estos resultados podemos establecer que a mayor tamaño de las vetas de grasa, mayor intensidad del brillo (coeficiente de correlación de Pearson $R^2 = 0.627$; $p < 0.001$), mayor veteado (coeficiente de correlación de Pearson $R^2 = 0.572$; $p < 0.001$) y más irregulares son las vetas de grasa (coeficiente de correlación de Pearson $R^2 = 0.388$; $p < 0.05$) que perciben el panel de catadores entrenados.

Por último, del resto de atributos sensoriales evaluados destaca el flavor a rancio que fue superior en los lomos del lote IBxD-AOVE. Estos resultados podrían estar relacionados con los mayores cantidades de compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza de los lomos de este lote en comparación con el resto de lotes, teniendo en cuenta que muchos de estos compuestos presentan notas aromáticas a rancio como es el caso del hexanal. En concreto, los valores obtenidos de hexanal en el lote de lomos IBxD-AOVE fueron superiores al del resto de lotes como se describió en el capítulo II y VII de la presente Tesis Doctoral. En relación al perfil de compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza de los lomos curados, éste estuvo principalmente definido por compuestos derivados de las reacciones de oxidación lipídica. No obstante hay que destacar la presencia de determinados compuestos procedente de la degradación de Strecker de ciertos aminoácidos que presentan unas connotaciones aromáticas muy agradables como el 3-metilbutanal o la 2,6-dimetilpiracina. Por tanto, podríamos decir que las características del perfil de compuestos volátiles del lomo curado presentó potenciales implicaciones tanto positivas, por ejemplo en atributos relacionados con la jugosidad, como negativas, en relación a la

percepción de un flavor rancio. En este sentido, habría que indicar igualmente que un cierto nivel de rancidez es deseable en los productos derivados del cerdo Ibérico (Ruiz y cols., 2002b). Aunque el perfil de volátiles para el lomo curado fue similar al descrito para el jamón Ibérico (García y cols., 1991; Timón y cols., 1998; Andrés y cols., 2002; Ruiz y cols., 1998; 1999), la abundancia de determinados compuestos que pudieran provenir de la actividad microbiana indicarían que en el caso del lomo curado el metabolismo microbiano presenta una mayor importancia en la generación de compuestos volátiles en comparación con el jamón Ibérico, donde predominarían las reacciones de oxidación lipídica. La alimentación de los animales en régimen de montanera determinó la presencia de algunos compuestos con connotaciones aromáticas agradables en el lote de lomos IB-MON y cuyo origen más probable sea su presencia en la hierba o las bellotas consumidas durante este periodo. Por tanto, determinados compuestos volátiles, por su procedencia, podrían diferenciar el lote de montanera del resto. Además, el flavor podría haber influido positivamente en la aceptabilidad de los lomos del lote IB-MON, como se confirmó en el estudio realizado con consumidores, en el cual, lomos del lote IB-MON fueron preferidos a los del lote IB-AOVE, a pesar de que las muestras evaluadas presentaban igual contenido en GIM.

Con respecto a las características nutritivo-dietéticas, el perfil de ácidos grasos de la fracción de lípidos neutros así como el contenido en colesterol presentado por el lomo curado se aproximó, en general, a las recomendaciones nutricionales establecidas por diferentes Instituciones Internacionales (OMS., 2003; U. S. Department of Health and Human Services (HHS) and Department of Agriculture (USDA), 2005) con el objetivo de reducir los factores dietéticos que aumentan el riesgo de padecer determinadas enfermedades cardiovasculares, desarrollo de obesidad e incluso la predisposición a padecer determinados tipos de cáncer. Los altos niveles de AGMI y los bajos de AGS en comparación con otro tipo de carnes y el bajo contenido en colesterol a pesar de presentar altos niveles de GIM fueron las dos características que podrían considerarse como de mayor beneficio sobre la salud del consumidor. Aunque otros parámetros como el cociente AGPI/AGS, el cociente AGPI n-6/n.3 se alejaron de las recomendaciones nutricionales, los valores obtenidos son similares a los descritos por otros autores en productos cárnicos curados. En este sentido, habría igualmente que destacar que el porcentaje tanto de los AGPI n-6 como de los AGPI n-3 presentes en la fracción de lípidos neutros de la GIM del lomo curado fueron bajas, inferior al 5% para los AGPI n-6 e inferior al 0.5% para los AGPI n-3, por lo que la repercusión de este tipo de ácidos grasos sobre la salud de los

consumidores derivada de la ingesta de productos del cerdo Ibérico sería escasa. Además, el consumo de los productos del cerdo Ibérico es necesario situarlo en el contexto de una dieta variada y equilibrada en la que se incluye otro tipo de alimentos. Por tanto, aquellos aspectos relacionados con el perfil lipídico de la grasa del lomo curado de cerdo Ibérico que no cumplan las recomendaciones nutricionales sería compensado con el consumo de otros alimentos con diferente composición en ácidos grasos.

IV. REFERENCIAS

- Alasnier C., David-Brian E. y Gandemer G. (1999). Lipolysis in muscles during refrigerated storage as related to metabolic type of fibres in the rabbit. *Meat Science*, 54, 127-134.
- Andrés A. I., Cava R., Mayoral A. I., Tejeda J. F., Morcuende D. y Ruiz J. (2001). Oxidative stability and fatty acid composition of pig muscles affected by rearing system, crossbreeding and metabolic type of muscle fibre. *Meat Science*, 59, 39-47.
- Andrés A. I. y Ruiz J. (2001). Tecnología del salazonado del jamón Ibérico (capítulo VIII). En: *Tecnología del jamón Ibérico.: de los sistemas tradicionales a la explotación racional del sabor y el aroma*. Ventanas J. (coordinador). Ed. Mundi-Prensa (Madrid, Barcelona, México), pp: 227-254.
- Andrés A. I., Cava R. y Ruiz J. (2002). Monitoring volatile compounds during dry-cured ham ripening by solid-phase microextraction coupled to a new direct-extraction device. *Journal of Chromatography A*, 963, 83-88.
- Antequera T., García C., López Bote C., Ventanas J., Asensio M. A. y Córdoba J. J. (1994). Evolution of different physicochemical parameters during ripening Iberian ham from Iberian (100%) and Iberian x Duroc pigs (50%).
- Arnau J., Gou P. y Comaposada J. (2003). Effect of the relative humidity of drying air during the resting period on the composition and appearance of dry-cured ham surface. *Meat Science*, 65, 1275-1280.
- BOE. Boletín Oficial del Estado. (2001). Real Decreto 1083/2001, de 5 de Octubre, por el que se aprueba la norma de calidad para el jamón Ibérico, paleta ibérica y caña de lomo Ibérico elaborados en España. *B.O.E.*, 247, 15 de Octubre, 37830-37833.
- BOE. Boletín Oficial del Estado. (2004). Orden presidencial 3844/2004, de 18 de Noviembre, por la que se establecen los métodos oficiales de toma de muestras en canales de cerdos Ibéricos y el método de análisis para la determinación de la composición en ácidos grasos de los lípidos totales del tejido adiposo subcutáneo de cerdos Ibéricos. *B. O. E* n° 283, 24 de Noviembre, 38770-38779.
- Boylston T.D., Morgan S.A., Johnson K.A., Wright R.W., Busboom J.R., Reeves J.J. (1996). Volatile lipid oxidation products of Wagyu and domestic breeds of beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1091-1095.
- Cantos E., Espín J. C., Lopez-Bote C. J., de la Hoz L., Ordoñez, J. A., y Tomas-Barberan A. T. (2003). Phenolic compounds and fatty acids for acorns (*Quercus* spp.), the main dietary constituent of Free-range Iberian Pigs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6248-6255.

- Carrapiso A. I. y García C. (2005). Instrumental colour of Iberian ham subcutaneous fat and lean (*biceps femoris*): Influence of crossbreeding and rearing system. *Meat Science*, 71, 284-290.
- Carrodegua J.A., Burgos C., Moreno C., Sánchez A. C., Ventanas S., Tarrafeta L., Barcelona J. A., López M. O., Oria R., López Buesa P. (2005). Incidence in diverse pig population of an IGF2 mutation with potential influence on meat quality and quantity: An assay based on real time PCR (RT-PCR). *Meat Science*, 71(3), 577-582
- Cava R., Ventanas J., Ruiz J., Andrés A. I. y Antequera, T. (2000). Sensory characteristics of Iberian ham: Influence of rearing system and muscle location. *Food Science and Technology International*, 6(3), 235-242.
- Chizzolini R., Zanardi E., Dorigoni V. y Ghidini S. (1999). Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat meat and meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 119-128.
- Cilla I., Altarriba J., Guerrero L., Gispert M., Martínez L., Moreno C., Beltrán J. A., Guardia M. D., Diestre A., Arnau J y Roncalés P. (2006). Effect of different Duroc line sires on carcass composition, meat quality and dry-cured ham acceptability. *Meat Science*, 72, 252-260.
- Daza A., Rey A. I., Ruiz J., y López-Bote C. (2005). Effects of feeding in free-range conditions or in confinement with different dietary MUFA/PUFA ratios and α -tocopheryl acetate, on antioxidants accumulation and oxidative stability in Iberian pigs. *Meat Science*, 69, 151-163.
- Dikeman M E. (1987). Fat reduction in animals nad the effects on palatability Nd consumer acceptance of meta products. *Proceedings of the Reciprocal Meat Conference*, 40, 93-105.
- Estévez M., Morcuende D. y Cava R. (2003). Physicochemical characteristics of M *Longissimus dorsi* from three lines of free-range reared Iberian pigs slaughtered at 90 kg live weight and commercial pigs: a comparative study. *Meat Science*, 64 (4), 499-506.
- Estevez M., y Cava R. (2004). Lipid and protein oxidation, release of iron from heme molecule and colour deterioration during refrigerated storage of liver pâté. *Meat Science*, 68, 551-558.
- Freire J.P., Mourot J., Cunha L.F., Almeida J.A. y Aumaitre A.. (1998). Effect of the source of dietary fat on post-weaning lipogenesis in lean and fat genotypes of pigs. *Annales Nutrition Metabolisme*, 42, 90-95.
- García C., Berdagué J.J., Antequera T., López-Bote C., Córdoba J.J. y Ventanas J. (1991). Volatile components of dry-cured Iberina ham. *Meat Science*, 41, 23-32.
- Gonzalez E., Tejada J. F., Moltiva M. J., y Romero M. P. (2004). Phenolic compounds in subcutaneous adipose tissue from Iberian pigs. In *Proceedings 5ème Symposium. International sur le Porc Méditerranéen* (pp. 31).16-19 November, 2004, Tarbes, France.
- Gou P. y Comaposada J. (1997). La transferencia de agua en el interior del jamón curado durante el proceso de secado. *Eurocarne*, 58, julio, 33-39.
- Igene, J. O., & Pearson, A. M. (1979). Role of phospholipids and triglycerides in warmed-over-flavor development in meat model systems. *Journal of Food Science*, 44, 1285-1290.
- Jurado A., Carrapiso A. I., Timon M. L. y García C. (2003). Efecto de las líneas de cerdo Ibérico en las características sensoriales del jamón madurado. In *Proceedings of 2nd World Congress of Ham Science, Technology and Marketing*. Caceres, Spain.

- Jurado, A. (2005). Evolución de compuestos relacionados con el sabor y el aroma del jamón Ibérico de distintas calidades durante su procesado. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura, España.
- Kinney Sweeten M., Cross H. R., Smith G.C. and Smith S.B. (1990). Subcellular distribution and composition of lipids in muscles and adipose tissues. *Journal of Food Science*, 55, 43-45.
- Lehninger A. L. (1984). Lípidos y membranas (capítulo 12). En: *Principios de bioquímica*. Ediciones Omega, S.A.; Brcelona.
- Lewis Jr. P. K., Rakes L. K. Y., Brown H. G., Brown Jr., A. H., Johnson Z. y Brown C. J. (1993). Effects of maturation rate, marbling and cooking on the fat, cholesterol and lipid phosphorus composition of Beef muscle. *Journal of Muscle Foods*, 4, 41-56.
- Lindalh G., Lundstrom K y Tornberg E. (2001). Contribution of pigment content, myoglobine forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. *Meat Science*, 59(2), 141-151.
- Lopez-Bote C. J. (1998). Sustained utilization of the Iberian Pig Breed. *Meat science*, 49 (1), 17-27.
- Martín L., Timón M. L., Petró M. J., Ventanas J. y Antequera T. (2000). Evolution of volatile aldehydes in Iberian ham matured under different processing conditions. *Meat Science*, 54, 333-337.
- Mason L. M., Hogan S. A., Lynch A., O'Sullivan K., Lawlor P. G., y Kerry J. P. (2005). Effects of restricted feeding and antioxidant supplementation on pig performance and quality characteristics of *Longissimus dorsi* muscle from Landrace and Duroc pigs. *Meat Science*, 70, 307-317.
- Mercier Y., Gatellier P., Viau M., Remignon H., y Renerre M. (1998). Effect of fat and vitamin E on colour stability and lipid and protein oxidation in turkey meat during storage. *Meat Science*, 48, 301-318.
- Morales J., Pérez J. F., Baucells M. D., Mourou J. y Gasa J. Comparative digestibility and lipogenic activity in Landrace and Iberian pig fed ad libitum corn- and corn-sorghum-acorn-based diets. *Livestock Production Science*, 77, 195-205.
- Muriel E. (2003). Estudio comparativo de parámetros físico-químicos y sensoriales de lomo Ibérico. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura. España.
- Muriel E., Ruiz J., Martín L., Petró M. J. y Antequera T. (2004). Physico-chemical and sensory characteristics of dry-cured loin from different Iberian pig lines. *Food Science and Technology International*, 10(2), 117-123.
- Nilzen V., Babol J., Dutta P. C., Lundeheim N., Enfält A. C., y Lundström K. (2001). Free range rearing of pigs with access to pasture grazing – effect on fatty composition and lipid oxidation products. *Meat Science*, 58, 267-275.
- OMS. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation*. WHO Technical Report Series 916, Geneve.
- Petró M. J., García Regueiro J. A., Martín L., Muriel E. y Antequera T. (2003). Identification and quantification of colesterol and colesterol oxidation products in different types of Iberina hams. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5786-5791.
- Rey A. I., Daza A., López-Carrasco C. y López-Bote C. J. (2006). Feeding Iberian pigs with acorns and grass in either free-range or confinement affects the carcass characteristics and fatty acids and tocopherols accumulation in *Longissimus dorsi* muscle and backfat. *Meat Science*, 73, 66-74.

- Ruiz J., Cava R., Ventanas J. y Jensen M.T. (1998). Headspace solid phase microextraction for the analysis of volatiles in a meat product. Dry-cured Iberian ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4688-4694.
- Ruiz J., García C., Muriel E., Andrés A. I. y Ventanas J. (2002a). Influence of sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science*, 61, 347-354.
- Ruiz J., Ventanas J., Cava R., Andrés A. I., y García C. (1999). Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process. *Meat Science*, 52, 19-27.
- Ruiz J., Ventanas J., Cava R., Andrés A. I., y García C. (1999). Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process. *Meat Science*, 52, 19-27.
- Ruiz J., Ventanas J., Cava R., Andrés A. y García, C. (2000). Texture and appearance of dry-cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International*, 33, 91-95.
- Ruiz, J.; Muriel, E.; Ventanas, J. The flavour of Iberian ham. (2002b). En *Research Advances in the Quality of Meat and Meat products*; Toldrá, F., Ed.; Research Singpost; Trivandrum Kerala, India, pp 290-309.
- Schaich K.M. (1980). Free radical initiation in proteins and amino acids by ionizing and ultraviolet radiations and lipid oxidation. III: Free radical transfer from oxidizing lipids. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 13, 189-244.
- Stadman E.R. y Berlett B.S. (1997). Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Chemistry Research Toxicology*, 10, 484-494.
- Tejeda J. F., Antequera T., Martín L., Ventanas J. y García C. (2001). Study of the branched hydrocarbon fraction of intramuscular lipids from Iberian fresh ham. *Meat Science*, 58, 175-179.
- Tejeda J. F., Gandemer G., Antequera T., Viau M, García C. (2002). Lipids traits of muscles as related to genotype and fattening diet in Iberian pigs: total intramuscular lipids and triacylglycerols. *Meat Science*, 60, 357-363.
- Timón M. L., Ventanas J., Martín L., Tejeda J. F. y García C. (1998). Volatile compounds in supercritical carbon dioxide extracts of Iberian ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 5143-5150.
- U. S. Department of Health and Human Services (HHS) and Department of Agriculture (USDA). (2005). *Dietary Guidelines for America*. (www.health.gov/dietaryguidelines/dga2005).
- 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, 803-815.
- Viljanen K, Kylli P, Kivikari R, y Heinonen M. (2004). Inhibition of protein and lipid oxidation in liposomes by berry phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7419-7424.

CONCLUSIONES

1. La genética de los animales influye sobre el contenido en grasa intramuscular del músculo *longissimus dorsi* y del lomo curado, siendo superior en los lomos procedentes de cerdos de raza Ibérica pura en comparación con los derivados de cerdos cruzados, tanto de madre Ibérica como de madre Duroc (Ibérico x Duroc, 50%).
2. El hidrocarburo ramificado neofitadieno y el γ -tocoferol se confirman como marcadores de la alimentación en montanera y cómo métodos potencialmente útiles para la clasificación de la materia prima, complementarios al método oficial establecido por la Norma de Calidad de análisis de la composición en ácidos grasos del tejido adiposo.
3. Existen fenómenos de oxidación de proteínas en el lomo curado de cerdo Ibérico, lo que confirma que las reacciones oxidativas que tienen lugar durante el proceso madurativo de los productos cárnicos curados afectan tanto a lípidos como a proteínas, estando ambos procesos interrelacionados.
4. Tanto el empleo de piensos enriquecidos en ácido oleico y suplementados con 250 ppm de α -tocoferol como la alimentación en montanera, consiguen modular el desarrollo de procesos de oxidación lipídica y proteica en el músculo *longissimus dorsi* y en el lomo curado.
5. El contenido en colesterol, en hierro y la composición en ácidos grasos de la GIM del lomo curado Ibérico es adecuada desde el punto de vista de la salud de los consumidores en el contexto de una dieta variada y equilibrada.
6. El contenido en grasa intramuscular, determinado por la genética de los animales, influye sobre los atributos sensoriales del lomo curado, siendo aquellos relacionados con el aspecto, principalmente el vetado, y con la textura, principalmente la jugosidad, los más afectados por este parámetro.

7. La edad de los consumidores influye sobre la preferencia por los lomos con diferente contenido en grasas intramuscular, siendo los consumidores mayores de 25 años los que establecen el mayor contenido en grasa intramuscular como un factor positivo y de calidad en los lomos curados. Un elevado contenido en grasa intramuscular de la materia prima junto con una alimentación de los animales en montanera durante la fase de cebo se confirman como las estrategias más adecuadas para obtener lomos curados de una alta calidad sensorial.
8. La formación de compuestos volátiles derivados de la degradación de Strecker tiene lugar en sistemas modelo que contienen liposomas de músculo *longissimus dorsi* con aminoácidos en ausencia de microorganismos y bajo unas condiciones de incubación que simulan la maduración de un producto cárnico.
9. El contenido y características físicas de la grasa intramuscular, así como las características físico-químicas de los compuestos volátiles influyen sobre la dinámica de generación y liberación de estos compuestos. Se confirma que los lomos de mayor contenido en GIM son los que presentan una mayor cantidad de compuestos volátiles totales así como de compuestos aromáticos determinantes de la calidad sensorial.
10. La presencia de determinados compuestos volátiles como algunos hidrocarburos, terpenos y compuestos de Maillard caracterizan el perfil de compuestos volátiles de los lomos de cerdos Ibéricos de montanera.

ANEXO



Protein and lipid oxidation in *Longissimus dorsi* and dry cured loin from Iberian pigs as affected by crossbreeding and diet

Sonia Ventanas^{a,*}, Mario Estevez^a, Juan Florencio Tejeda^b, Jorge Ruiz^a

^a *Tecnología y Bioquímica de los Alimentos, Facultad de Veterinaria Universidad de Extremadura, Avd de la Universidad s/n, 10071 Cáceres, Spain*

^b *Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura, Ctra Cáceres s/n, 06071 Badajoz, Spain*

Received 14 May 2005; received in revised form 5 September 2005; accepted 23 September 2005

Abstract

Lipid and protein oxidation in *Longissimus dorsi* (LD) and dry-cured loins from pigs with different genetic (pure Iberian (IBP), Iberian female × Duroc male (IB × D) and Duroc female × Iberian male (D × IB)) and feeding backgrounds (free rearing on acorn and pasture (MON), concentrates high in oleic acid and supplemented with 250 ppm of vitamin E (HOVE) and control concentrates (CON)) were investigated. Diet influenced the fatty acids profile from PL and α - and γ -tocopherol contents of LD. IBP–MON pigs showed the lowest malonaldehyde (MDA) values at 200 min of iron induced muscle oxidation. Dry-cured loins from IBP–HOVE pigs had significantly ($p < 0.05$) higher values of TBARS than those from the other batches. Neither the diet nor crossbreeding affected hexanal counts in dry-cured loins. Protein carbonyl content showed a similar trend to that observed for MDA values in LD, suggesting a protective role of tocopherol against lipid and protein oxidation. The positive and significant correlations between iron induced lipid oxidation in LD (200 min) and carbonyl content in LD and dry-cured loin (R^2 : 0.55 and R^2 : 0.52, respectively, $p < 0.01$) support the relationship between lipid and protein oxidation.

© 2005 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Iberian pig; α -tocopherol; High oleic sunflower oil; Lipid oxidation; Protein oxidation; Dry-cured loin

1. Introduction

Oxidative phenomena in muscle based foods take place immediately after slaughter (even pre-slaughter), when cellular mechanism controlling lipid oxidation no longer work (Morrissey, Sheehy, Galvin, Kerry, & Buckley, 1998). Oxidation is considered one of the main causes for functional, sensory and nutritional quality deterioration in meat and meat products, due to insolubilization of proteins, off-flavour development and formation of free radicals and other oxidized compounds, such as cholesterol oxidation products (Morrissey et al., 1998). Nevertheless, lipid oxidation also has positive implications, since some of the volatile compounds which show pleasant flavour

notes in Iberian dry-cured meat products arise from oxidation of unsaturated fatty acids (Carrapiso, Ventanas, & Garcia, 2002).

Protein oxidation in muscle foods can be linked to any of the prooxidative factors involved in the formation of reactive oxygen species (Xiong, 2000). Protein oxidation undergoes similar processes to those in lipid oxidation, involving initiation, propagation and termination stages (Schaich, 1980). These processes specially affect those amino acids with reactive side chains (Xiong, 2000). As a consequence, carbonyl derivatives may be generated, protein polymerization may take place or peptides scission may happen (Decker, Xiong, Calvert, Crum, & Blanchart, 1993; Xiong, 2000). These processes are commonly linked to a decrease in muscle protein functionality, leading to increasing water losses, weaker protein gels or less stable emulsions (Xiong, 2000). In addition, these modifications

* Corresponding author. Tel.: +34 927 257 122; fax: +34 927 257 110.
E-mail address: sanvenca@unex.es (S. Ventanas).

can negatively affect the sensory quality of fresh meat and meat products in terms of texture, tenderness and colour (Rowe, Maddock, Lonergan, & Huff-Lonergan, 2004).

No study dealing with protein oxidation in dry cured meat products is available in the scientific literature. Since the extent of lipid oxidation in such meat products is high (Andres, Cava, Ventanas, Muriel, & Ruiz, 2004; Cava, Ruiz, Ventanas, & Antequera, 1999), the occurrence of protein oxidation is probable.

Supplementation of pig feeding with supranutritional amounts of α -tocopherol has been confirmed as a successful strategy for reducing the extent of lipid oxidation in dry cured meat products (Cava et al., 1999). Therefore, it could also show an antioxidant effect on protein oxidation, as has been observed in model systems (Viljanen, Kylli, Kivikari, & Heinonen, 2004).

This study was aimed to evaluate the effect of different factors (crossbreeding, free-range reared, dietary fat and α -tocopherol supplementation) on the oxidation of lipids and proteins in LD and dry-cured loin. Moreover, the relationship between lipid and protein oxidation was assessed.

2. Materials and methods

2.1. Animals and diets

This study was carried out with 24 IBP, 24 IB \times D pigs (Iberian females and Duroc males) and 13 D \times IB pigs (Duroc females and Iberian males) with an initial weight of 80 kg. Pigs were divided into five batches according to the type of feeding during the finish-fattening period (60 days prior to slaughter). Twelve IBP pigs ($n = 12$) were free-range reared and exclusively fed on acorn and grass according to the traditional 'montanera' feeding system (IBP–MON). The rest of the IBP pigs ($n = 12$), eleven IB \times D pigs ($n = 11$) and all D \times IB pigs ($n = 13$) were reared indoors and fed on concentrates containing high oleic sunflower oil (5.75×10^4 mg kg⁻¹ of diet) and supplemented with 250 ppm of vitamin E (IBP–HOVE, IB \times D–HOVE and D \times IB–HOVE, respectively). Finally, 13 IB \times D pigs ($n = 13$) were reared indoors and fed on control concentrates (IB \times D–CON). Crossbreeds and diets are summarized in Table 1.

Animals were slaughtered by electrical stunning and exsanguination at a local slaughterhouse after the fattening period at a live weight of 165–175 kg.

2.2. Sampling and processing

Sampling was carried out within an hour of slaughter. LD was removed from the carcass and about 80 g from the central part of the muscle was taken and subsequently stored at -80 °C until analysis. Dry cured loins were elaborated using the caudal half of the LD of all animals. Processing was carried out at a commercial plant as follows: after 48 h of chilling at 4 °C, loins were seasoned with a mixture of salt (2.5%), nitrites and sugar (0.7%) and water (1%). Garlic, paprika and olive oil, which are common ingredients for Iberian dry-cured loin, were not used to avoid interferences in lipid oxidation or volatile compounds formation. The loins were kept for 4 days at 4 °C to allow the seasoning mixture to penetrate. After that, loins were stuffed into collagen casings and held for one month at 4 °C at a relative humidity (RH) of 75–80%. Finally, loins were ripened for an additional 60 days at 10–16 °C at a RH of 75–65%. Once the processing was completed, loins were vacuum packaged and kept frozen (-80 °C) until analysis.

2.3. Chemical analysis of diets

Proximate composition of diets was carried out according to the following procedures (AOAC, Association of Official Analytical Chemists, 1990): nitrogen content by the Kjeldahl method (976.05), crude protein (954.01), crude fat (920.39), crude fibre (962.09) and ash (942.05).

2.4. Fat extraction and fatty acid analysis of diets and samples

Intramuscular total lipids and lipids from diets were extracted and quantified according to the method described by Bligh and Dyer (1959). Neutral lipids, free fatty acids and PL fractions from IMF were separated using NH₂-aminopropyl minicolumns following the method described by Ruiz, Antequera, Andres, Petron, and Muriel (2004). Fatty acid methyl esters (FAMES) of PL and diets were prepared by acidic-trans-esterification in the presence of sulphuric acid (5% sulphuric acid in methanol) (Sandler & Karo, 1992). FAMES were analysed by gas chromatography using a Hewlett–Packard HP-5890A gas chromatograph, equipped with a flame ionisation detector (FID). Separation was carried out on a polyethylene glycol–TPA

Table 1
Experimental design, showing batch names with the respective diet received by animals and the genetic background of the pigs

	Experimental diet			Breed		
	Indoors		Outdoors	Iberian pure	♀Ib \times D	♀D \times Ib
	HOVE	Control	Acorns and grass			
IBP–MON ($n = 12$)			•	•		
IBP–HOVE ($n = 12$)	•			•		
IB \times D–HOVE ($n = 11$)	•				•	
D \times IB–HOVE ($n = 13$)	•					•
IB \times D–CON ($n = 13$)		•			•	

modified fused silica semicapillary column (30 m long, 0.53 mm i.d., 1 μ m film thickness) maintained at 225 °C. Injector and detector temperatures were 230 °C. Carrier gas was nitrogen at a flow rate of 1.8 mL min⁻¹. Individual FAME peaks were identified by comparing their retention times with those of standards (Sigma, St. Louis). Results are expressed as percentage of selected fatty acids. Total amount of PUFA from PL fraction was quantified (mg/100 g) using tridecanoic acid as internal standard, in order to calculate the ratio total PUFA from PL/ α -tocopherol.

2.5. Muscle α -tocopherol content

For the determination of α and γ -tocopherol, 0.8 g muscle was homogenised in 6 mL 0.054 M dibasic sodium phosphate buffer adjusted to pH 7.0 with HCl. After mixing with absolute ethanol and hexane and centrifugation (2000 rpm, 5 min. at 4 °C), the upper layer containing tocopherol was evaporated to dryness and subsequently dissolved in ethanol prior to analysis by reverse phase HPLC (HP 1050, with a UVD, HPIB 10 detector) (Hewlett–Packard, Waldbronn, Germany). Separation was made on a Lichrocart PR 18 endcapped column (250×4 mm i.d., 5 μ m particle size) (Merck Darmstad, Germany), the mobile phase was methanol:water (97:3 v/v) at a flow rate of 2 mL min⁻¹, and peaks were registered at 292 nm (Rey, Lopez-Bote, Soares, & Isabel, 1996).

2.6. Induced muscle lipid oxidation

The liability of muscle homogenates to iron-induced lipid oxidation was determined as described by Kornbrust and Mavis (1980). To prepare homogenates, 1 g ground muscle was homogenized with 9 mL of 0.15 M KCl for 45 s. During homogenisation tubes were kept in ice to avoid heating. Protein content was measured in 1 mL homogenate following the Lowry procedure (Lowry, Rosenberg, Farr, & Randall, 1951). One millilitre of muscle homogenate was incubated at 37 °C in 40 mM tris-maleate buffer (pH 7.4) with 1 mM FeSO₄ and 2 mM ascorbic acid in a total volume of 10 mL. At fixed intervals (0, 50, 100 and 200 min) aliquots were removed for measurement of TBARS by the method of Buege and Aust (1978). Results were expressed as nmoles of MDA per mg protein.

2.7. Thiobarbituric acid-reactive substances in dry-cured loin

TBARS were evaluated using the method of Salih, Smith, Price, and Dawson (1987). The product (2.5 g) was dispensed in cone plastic tubes and homogenised with 7.5 mL of perchloric acid (3.86%) and 0.25 mL of BHT (4.2% in ethanol). During homogenisation, the plastic tubes were immersed in an ice bath to minimise the development of oxidative reactions during extraction of TBARS. The slurry was filtered and centrifuged (67 g for 5 min) and 2 mL aliquots were mixed with 2 mL thiobarbituric acid (0.02 M) in test tubes. The test tubes were placed

in a hot water bath (90 °C) for 30 min together with the tubes from the standard curve. After cooling, the absorbance was measured at 532 nm. The standard curve was prepared using a 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) solution (0.2268 g) in 3.86% perchloric acid.

2.8. Hexanal in dry-cured loin

Hexanal content was quantified by headspace-SPME and GC/MS (gas chromatograph Hewlett–Packard 5890 serie II coupled to a mass selective detector Hewlett–Packard HP-5791 A) following the method developed by Andres et al. (2004). One gram of minced sample was weighed into a 4 mL vial. All vials were closed with a teflon/silicone septum. An SPME fibre (85 μ m carboxen-polydimethylsiloxane coating) was inserted through the septum and exposed to the headspace of the vial. Vials were pre-conditioned for 15 min at 37 °C. Extraction was carried out at 37 °C for 30 min in a water bath. After extraction, the SPME fibre was immediately transferred to the injector of the chromatograph which was in splitless mode at 280 °C. The separation of hexanal was performed on a 5% phenyl–methyl silicone (HP-5) bonded phase fused silica capillary column (Hewlett–Packard, 50 m × 0.32 mm i.d, film thickness 1.05 μ m), operating at 6 psi of column head pressure. Oven programme was: 40 °C for 10 min, 5 °C min⁻¹ to 200 °C, 15 °C min⁻¹ to 250 °C, and held 250 °C for 10 min. Transfer line to the mass spectrometer was maintained at 280 °C. The mass spectra were obtained using a mass selective detector by electronic impact at 70 eV, a multiplier voltage of 1756 V and collecting data at a rate of 1 scan s⁻¹ over the *m/z* range 30–500. Hexanal was tentatively identified by comparing its mass spectra and retention time with that of a standard (Sigma, St. Louis, USA) injected in the same conditions.

2.9. Protein oxidation in LD and dry-cured loin

Protein carbonyls, a protein oxidation index, were quantified in both LD and dry-cured loin, following the method described by Oliver, Ahn, Moerman, Goldstein, and Stadtman (1987). Homogenates (1 g of sample in 0.15 M KCL buffer) were divided into two equal aliquots of 0.1 mL. Then, proteins were precipitated in both aliquots by 10% TCA (1 mL) and centrifuged for 5 min at 2240 g. One pellet was treated with 1 mL of 2 N HCL (protein concentration measurement) and the other with an equal volume of 0.2% (w/v) 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) in 2 N HCL (carbonyl concentration measurement). Both samples were incubated for 1 h at room temperature. After this time, samples were precipitated with 10% TCA (0.8 mL) and washed twice with 1 mL of ethanol:ethyl acetate (1:1 v/v). The pellets were then dissolved in 2 mL of 6 M guanidine HCL with 20 mM sodium phosphate buffer, pH 6.5, stirred and centrifuged for 2 min at 2240g to remove insoluble fragments. Protein concentration was calculated from absorption at 280 °C using BSA as standard. The amount

of carbonyls was expressed as nmol of carbonyl per milligram of protein using an adsorption coefficient of $21.0 \text{ nM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ at 370 nm for protein hydrazones.

2.10. Statistics

Data of the different batches were analyzed by one-way analysis of variance using the GLM procedure of the SPSS (1997) statistical software (v. 12.0). When a significant probability was detected ($p < 0.05$), paired comparisons between means were carried out using the Tukey's test. Pearson's correlation coefficients were also calculated using the CORRELATION procedure of SPSS (v. 12.0).

3. Results and discussion

Proximate compositions and fatty acid profiles of HOVE concentrates, CON mixed diet, grass and acorns are given in Table 2. Grass presented the highest content

Table 2
Proximate chemical compositions and fatty acid profiles of mixed diets (HOVE and Control), grass and acorns

	Indoors		Outdoors	
	HOVE	Control	Grass	Acorns
Dry matter	90.54	88.66	10.76	53.9
Ash (% DM) ^a	4.62	3.95	13.47	2.17
Crude protein (% DM)	16.95	16.72	21.75	8.05
Crude fibre (% DM)	5.69	3.29	20.2	1.87
Fat (% DM)	8.29	3.55	3.07	7.18
NFE (% DM) ^b	64.45	72.49	46.52	80.73
∑ SFA	11.06	25.05	21.68	12.09
∑ MUFA	67.32	32.32	7.35	66.88
∑ PUFA	21.62	42.62	70.97	21.04

HOVE diet containing (mg kg^{-1} of diet): barley 48×10^4 , wheat 15×10^4 , bran 15×10^4 , soybean meal 8.5×10^4 , beet pulped 5×10^4 , sunflower high oleic 5.75×10^4 , calcium carbonate 9×10^3 , calcium phosphate 7×10^3 , sodium chloride 4×10^3 , corrector 5×10^3 , mix vitamin E 250.

Control diet containing (mg kg^{-1} of diet): barley 15×10^4 , wheat 50×10^4 , corn 20×10^4 , soybean meal 1.1×10^4 , lard 1.2×10^4 , calcium carbonate 8×10^3 , calcium phosphate 1.1×10^4 , sodium chloride 4×10^3 and corrector 5×10^3 .

^a DM, dry matter.

^b NFE, nitrogen-free extractives.

Table 3

Intramuscular fat contents (%), fatty acid profiles from PL (sum of total proportion of SFA, MUFA and PUFA), α - and γ -tocopherol contents ($\mu\text{g/g}$), and ratio of the total amount of PUFA from PL/ α -tocopherol content ($\text{g}/\mu\text{g}$) of LD

	IB × D–HOVE	IBP–HOVE	D × IB–HOVE	IB × D–CON	IBP–MON
IMF	$3.16^{\text{ab}} \pm 0.76$	$3.95^{\text{a}} \pm 1.43$	$2.53^{\text{b}} \pm 1.06$	$2.70^{\text{b}} \pm 0.69$	$4.18^{\text{a}} \pm 1.58$
∑ SFA	$29.37^{\text{b}} \pm 2.20$	$31.25^{\text{b}} \pm 4.49$	$28.28^{\text{b}} \pm 2.80$	$31.27^{\text{b}} \pm 5.18$	$43.64^{\text{a}} \pm 5.03$
∑ MUFA	$21.47^{\text{a}} \pm 1.68$	$21.76^{\text{a}} \pm 2.82$	$21.9^{\text{a}} \pm 4.65$	$16.35^{\text{b}} \pm 5.96$	$20.59^{\text{ab}} \pm 4.85$
∑ PUFA	$49.17^{\text{a}} \pm 2.69$	$46.98^{\text{a}} \pm 5.09$	$49.83^{\text{a}} \pm 6.74$	$52.38^{\text{a}} \pm 8.81$	$34.65^{\text{b}} \pm 5.62$
α -Tocopherol	$2.94^{\text{a}} \pm 0.48$	$3.11^{\text{a}} \pm 0.43$	$2.90^{\text{a}} \pm 0.50$	$1.38^{\text{b}} \pm 0.29$	$1.81^{\text{b}} \pm 0.76$
γ -Tocopherol	nd	nd	nd	nd	0.58 ± 0.18
∑ PUFA/ α -Tocopherol	$0.51^{\text{bc}} \pm 0.31$	$0.47^{\text{bc}} \pm 0.12$	$0.67^{\text{b}} \pm 0.22$	$1.01^{\text{a}} \pm 0.38$	$0.25^{\text{c}} \pm 0.10$

Values are means \pm standard deviation.

Means with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

nd: not detected.

of crude protein (21.75% DM), crude fibre (20.2% DM) and ash (13.47% DM), whereas the acorns showed the highest content of Nitrogen-free extractives (NFE) (80.73% DM) and the lowest of protein (8.05% DM). HOVE mixed diet presented higher levels of fat than the control diet (8.29% vs 3.55% DM), but similar to those found in acorns (7.18% DM).

These values basically agree with previously reported values (Cava, Ventanas, Tejada, Ruiz, & Antequera, 2000; Muriel, Ruiz, Ventanas, & Antequera, 2002; Ruiz et al., 1998), showing the high fat content of acorns.

The proportion of total saturated fatty acids (SFA), monounsaturated fatty acids (MUFA) and PUFA of feeds revealed notable differences between acorns, grass and concentrates (Table 2). Grass was characterised by a relative high proportion of PUFA (70.97%). Control diet had higher levels of SFA and PUFA (25.05% vs 11.06% and 42.62% vs 21.62%, respectively) and was lower in MUFA (32.32% vs 67.32%), compared to the HOVE mixed diet. As intended, HOVE mixed diet and acorns presented similar fatty acid profiles, showing the highest content of MUFA and a relative low content of PUFA, according to previous published works (Muriel et al., 2002).

Table 3 shows the IMF, α - and γ -tocopherol content of LD together with the proportions of total SFA, MUFA and PUFA from PL and the ratio between total amount of PUFA from PL/ α -tocopherol content.

It seems that crossbreed affected IMF content of LD, since batches from pure Iberian pigs (IBP–HOVE and IBP–MON) showed higher levels of IMF than crossbreed batches (IB × D and D × IB). Regardless of the feeding regime, these differences were significant ($p < 0.05$) except for the IB × D–HOVE batch. On the other hand, diet did not appear to influence this parameter. Iberian pig is a fast maturing and anabolic breed, with a high tendency to accumulate fat (Lopez-Bote, 1998). The crossbreeding of Iberian pigs with Duroc-Jersey and other commercial breeds increases the lean content of the carcass, and concomitantly decreases the IMF content (Dobao, Rodriganez, & Silio, 1986).

α -tocopherol content of LD muscle was significantly influenced by diet, whereas crossbreeding did not show

any affect (Table 3). Muscle from pigs supplemented with 250 ppm of α -tocopherol (HOVE diets) presented significantly higher ($p < 0.05$) α -tocopherol contents than muscles from free range reared pigs and pigs fed on CON diets. In fact, supplemented pigs had levels of muscle α -tocopherol between 2.9 and 3.1 $\mu\text{g g}^{-1}$, while pigs fed the CON diet had 1.38 $\mu\text{g g}^{-1}$ and free-range animals 1.81 $\mu\text{g g}^{-1}$. These results are in agreement with other studies where the supplementation of pigs with vitamin E involved an increase in α -tocopherol deposition in LD muscles (Lauridsen, Krogh, Skibsted, & Bertelsen, 2000; Mason et al., 2005; Rey, Isabel, Cava, & Lopez-Bote, 1998) showing that muscle α -tocopherol content depends upon the feeding α -tocopherol concentration. The lower muscle α -tocopherol content in LD from free-range reared pigs than in muscle from vitamin E supplemented pigs could be surprising, since other authors have reported higher levels of α -tocopherol in muscle from Iberian pigs reared outdoors (Cava et al., 2000; Daza, Rey, Ruiz, & Lopez-Bote, 2005). These high values were attributed to the high levels of α -tocopherol in the grass. Nevertheless, the amount of ingested grass by free-range animals during fattening is highly variable and depends upon the specific grassland and the climate conditions. Moreover, grass includes a large variety of heterogeneous plant materials with different α -tocopherol contents (Lynch, Kerry, Buckley, Morrissey, & Lopez-Bote, 2001).

LD from pigs reared outdoors and fed exclusively on grass and acorns had detectable levels of γ -tocopherol whereas in samples from pigs fed on HOVE and CON diets, γ -tocopherol was not detected (Table 3). Previous studies have shown that acorns are sources of γ -tocopherol to pigs raised extensively (Rey et al., 1998) and the γ -tocopherol content reported in this diet source was higher than in grass and mixed diets (Daza et al., 2005). Daza et al. (2005) found lower γ -tocopherol contents (0.38 $\mu\text{g g}^{-1}$) in LD from Iberian free-range pigs than found in present study (0.58 $\mu\text{g g}^{-1}$). This could be partly due to differences in the analytical procedures, but also in the amount of acorns consumed by outdoors pigs, since acorn availability strongly depends upon climate conditions and specific features of the land. The presence of γ -tocopherol in LD muscle could be used as an indicator of the feeding background, identifying those pigs free reared and fed on acorns.

Total SFA, MUFA and PUFA from PL of LD muscle is shown in Table 3. Overall, the fatty acid composition of muscle PL tended to reflect that of the diets fed to the animals, whereas crossbreeding did not show any clear effect. SFA were significantly higher ($p < 0.05$) and PUFA significantly lower ($p < 0.05$) in PL from LD of free-range reared pigs than in pigs reared indoors (either HOVE or CON batches). On the other hand, MUFA from PL were significantly higher ($p < 0.05$) in LD muscle from pigs fed with diet containing high oleic sunflower oil than pigs fed the CON diet. Free reared pigs showed intermediate levels of MUFA in muscle PL between those fed the high oleic con-

centrate and those fed a commercial CON diet. Nuernberg et al. (2005) have reported comparable results for fatty acid composition of LD muscle in pigs using olive oil as a source of dietary MUFA. On the other hand, Daza et al. (2005) did not find an increase in the proportion of MUFA in PL as a result of feeding diets rich in oleic acid. However, in the latter study the levels of MUFA in the diet were much lower than in the present study. Regarding the higher levels of MUFA in PL of free-range reared pigs compared with those fed a CON diet, similar results were reported by Cava et al. (2000) in *Biceps femoris* from Iberian pigs. HOVE pigs and MON pigs had similar MUFA proportions in PL, reflecting the MUFA contents found in HOVE concentrates and acorns. Therefore, HOVE diets appear to be a successful strategy to achieve a MUFA profile similar to that of free-range reared pigs, which has been highlighted as one of the main reasons to explain the high quality of meat products elaborated from this type of animal (Cava et al., 1999; Ruiz, García, Muriel, Andres, & Ventanas, 2002).

The ratio between total PUFA concentration from PL and α -tocopherol content in LD is shown in Table 3. This ratio has been suggested as an indicator of the oxidative stability of muscle (Lauridsen et al., 2000). Pigs fed the CON diet showed the highest ratio ($p < 0.05$) followed by pigs fed the HOVE diet, while pigs fed outdoors had the lowest ratio ($p < 0.05$). Additionally, IBP pigs tended to present lower ratios than crossbreed pigs, but this could not be confirmed statistically. Cava et al. (2000) also described lower ratios PUFA/ α -tocopherol in pigs fed on acorns and grass than in either control or vitamin E supplemented pigs. In the present paper, this trend was confirmed even though the mixed diets were enriched in MUFA. Thus, it seems that although MUFA enriched diets successfully achieve a fatty acid composition similar to that of traditionally free reared animals, the susceptibility of muscle to oxidation is lower in outdoor reared pigs.

Iron induced lipid oxidation in LD at different times of incubation (0, 50, 100 and 200 min) expressed as nmoles of MDA per mg of protein is presented in Fig. 1. Significant differences were detected at all sampling times during incubation, but only the differences found among groups at 200 min are shown with different letters in Fig. 1. LD from free-range reared pigs showed the lowest levels of MDA, although they did not show statistical differences ($p > 0.05$) with animals from the IBP–HOVE batch. The rest of HOVE animals (IB \times D and D \times IB) showed significantly ($p < 0.05$) higher values at this incubation time. Muscles from the CON animals had the significantly highest values of MDA ($p < 0.05$). Therefore, both diet and crossbreeding seemed to affect the liability of muscle lipid to oxidation. First, diet showed a clear effect, both the supplementation with HOVE concentrates and the outdoors rearing contributing to lower susceptibility of muscle lipids to oxidation. This confirms the trends shown in the ratio between PUFA of PL and α -tocopherol. As far as crossbreeding is concerned, pure Iberian animals seemed to have

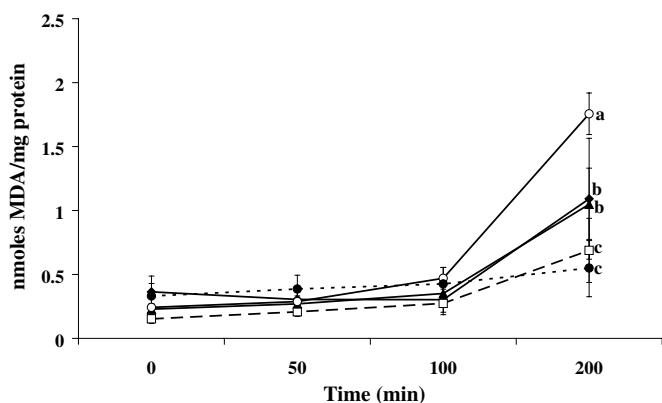


Fig. 1. Iron-induced lipid oxidation in *Longissimus dorsi* from IBP pigs reared on MON system (●), IBP pigs fed with HOVE mixed diet (enriched with high oleic sunflower oil and supplemented with 250 ppm of vitamin E) (□), IB × D pigs fed with HOVE mixed diets (◆), D × IB pigs fed with HOVE mixed diet (▲) and IB × D fed on CON diet (control concentrates) (○). Means with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

a lower susceptibility to lipid oxidation, as can be deduced by the significantly lower values of the IBP–HOVE batch compared to the other two HOVE batches (IB × D and D × IB).

The susceptibility of muscle to lipid oxidation depends upon the balance between antioxidants (i.e., α -tocopherol content) and prooxidant (i.e., PUFA from PL) factors (Gandemer, 2002). The presence of higher levels of α -tocopherol and lower levels of PUFA from PL (although not to a significant extent) in LD from HOVE pigs, giving rise to significantly lower PUFA/ α -tocopherol ratios than in LD from control pigs, surely contributes to the lower amount of MDA in muscle homogenates after 200 min of incubation in HOVE pigs. The protective effect of α -tocopherol supplementation against iron induced lipid peroxidation has been previously described in Iberian pigs (Cava et al., 2000; Daza et al., 2005). In fact, a significant correlation between MDA content after 200 min of incubation and muscle α -tocopherol content (R^2 : -0.48 (100 min) $p < 0.01$ and R^2 : -0.32 (200 min) $p < 0.05$) was found (Table 4). Moreover, Pearson's coefficients obtained for MDA after 200 min vs PUFA (R^2 : 0.52 , $p < 0.01$) and vs ratio PUFA/ α -tocopherol (R^2 : 0.65 , $p < 0.01$) suggest that not only does α -tocopherol content and PUFA from PL influence lipid oxidation, but also the ratio PUFA/ α -tocopherol content influences lipid oxidation in muscle.

The high level of IMF of the Iberian pure breed (Table 3) could partly explain the lower levels of MDA after 200 min of incubation found in LD homogenates in both

Table 4

Pearson's correlation coefficients (R^2) between MDA values in LD (iron induced lipid oxidation), TBARS values and hexanal contents in dry-cured loins and total PUFA from PL, α -tocopherol and ratio of the total amount of PUFA from PL/ α -tocopherol in LD

	Iron-induced lipid oxidation (min)				TBARS	Hexanal
	0	50	100	200		
PUFA from PL fraction	-0.30^*	-0.42^{**}	-0.11	0.52^{**}	-0.22	-0.14
α -tocopherol	-0.24	-0.24	-0.48^{**}	-0.32^*	0.03	0.12
PUFA/ α -tocopherol	-0.14	-0.15	0.27	0.65^{**}	-0.12	-0.07

* ($p < 0.05$).

** ($p < 0.01$).

IBP batches (IBP–HOVE and IBP–MON). Accordingly, Mason et al. (2005) and Nilzen et al. (2001) reported a higher susceptibility to lipid oxidation in muscles from pigs with leaner carcasses. Muscles with high IMF content present proportionally lower levels of lean, and therefore of phospholipids. It has been demonstrated that lipid oxidation in muscle foods is initiated and mainly takes place in membrane phospholipids (Igene & Pearson, 1979). Thus, proportionally lower levels of phospholipids due to high IMF content could involve a lower susceptibility to oxidation. In addition, the lower PUFA/ α -tocopherol ratios found in LD from IBP animals (Table 3) could also contribute to the lower susceptibility of LD muscle homogenates of IBP pigs.

Two oxidative parameters were measured in dry-cured loin, TBARS and hexanal. Values of mg of MDA Kg^{-1} of muscle and hexanal (Area Units) in dry-cured loin are shown in Table 5.

Dry-cured loins from IBP–HOVE pigs had significantly ($p < 0.05$) higher values of TBARS than those from the other batches, whereas the lowest levels were shown by D × IB–HOVE. Dry-cured loins from pure Iberian pigs tended to show higher TBARS values than observed in those from crossbred pigs. Compared to CON pigs, neither free range rearing nor diets rich in vitamin E and oleic acid seemed to influence TBARS numbers. Results regarding TBARS analysis in dry-cured loins are in disagreement with those obtained on LD muscle, since a clear influence of vitamin E supplementation was observed in induced lipid peroxidation of LD muscle (Fig. 1). Accordingly, Cava et al. (1999) did not find any influence of vitamin E supplementation on TBARS on Iberian dry-cured hams. MDA is not a stable compound, being highly reactive and remaining bound to other food components. In fact,

Table 5

Hexanal contents (area in A.U. $\times 10^8$) and TBARS values (mg MDA/kg muscle) in dry-cured loin

	Ib × D–HOVE	IBP–HOVE	D × IB–HOVE	IB × D–CON	IBP–MON
TBA	$0.74^{bc} \pm 0.14$	$1.24^a \pm 0.25$	$0.67^c \pm 0.16$	$0.85^{bc} \pm 0.20$	$0.90^b \pm 0.11$
Hexanal	$3.27^a \pm 0.40$	$3.31^a \pm 1.74$	$1.55^b \pm 0.72$	$2.44^{ab} \pm 0.86$	$2.40^{ab} \pm 0.63$

Values are means \pm standard deviation.

Means with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

during Iberian dry cured ham processing, an increase in TBARS values during the first steps of processing and a decrease in final steps have been reported (Andres et al., 2004; Cava et al., 1999). Several limitations have been described about using TBARS to determine lipid oxidation in dry cured products. The presence of residual nitrite in the samples from cured-products could lead to nitrosation of MDA, even at room temperature, making all or part of the MDA unreactive for TBARS determination, leading to TBA numbers lower than expected (Kolodziejaska, Skonieczny, & Rubin, 1990). Adding sulfanilamide which reacts with residual nitrite can prevent nitrosation of MDA (Fernandez, Perez-Alvarez, & Fernandez-Lopez, 1997). However, if there is a concentration of nitrite lower than 100 ppm, the addition of sulfanilamide may lead to an underestimation of TBARS because the MDA may condense with one or two molecules of this compound (Shahidi & Hong, 1991; Fernandez et al., 1997). An additional problem is that in dehydrated products, low TBARS have been described Kwon and Watts (1964) suggested that in this situation MDA is in a “volatile chelated” form due to the low water content, and therefore not held in the product. Therefore, the use of TBA for measuring MDA levels in a dehydrated cured product appears not to be satisfactory for assessing oxidation status. In addition, Kenaston, Wilbur, Ottolenghi, and Bernheim (1955) reported that the TBA test was relatively insensitive for the detection of oxidation products from oleic acid (C18:1 $n - 9$), which is the main fatty acid of Iberian products.

Although there were significant differences in hexanal content of dry-cured loins between batches, neither the diet nor crossbreeding show a clear influence on this parameter (Table 5). In fact, the hexanal content of the dry-cured loins did not show the same behaviour as TBARS, despite both parameters being indicators of lipid oxidation. Moreover, neither showed the trends observed in the fresh LD, in the ratio PUFA from PL/ α -tocopherol content and in the susceptibility of muscle lipids to oxidation. Similarly to MDA, hexanal is also a reactive compound, and some authors have pointed out variations in hexanal content during the processing of dry cured hams as a consequence of interactions with other compounds (Andres et al., 2004). This could partly explain the lack of relationship between hexanal content and predictors of lipid oxidation susceptibility in fresh meat.

Values of protein oxidation in LD muscle and dry-cured loin expressed as carbonyl content (nmoles carbonyls per mg protein) are shown in Table 6. LD muscles from

IBP–MON pigs showed lower values of protein carbonyl compounds than LD from CON pigs ($p < 0.05$) and no statistical differences were found compared to samples from HOVE pigs. Samples from HOVE diets had intermediate values, but did not show significant differences with control or free range ones. Crossbreeding did not show any significant effect. As far as dry cured loin is concerned, the trend was similar to that observed in fresh LD, with those from HOVE pigs showing values in between those from CON pigs and those from free reared ones.

An increase in carbonyl content from LD to dry-cured loins was found in all batches, most likely due to the prooxidative conditions during the ripening process. Observed values of protein carbonyl compounds were similar to those previously reported in LD from beef (3 nmoles of DNPH/mg protein) (Mercier, Gatellier, & Renerre, 2004), *M. pectoralis* from turkey (1.1–3.41 nmoles/mg protein) (Mercier, Gatellier, Viau, Remignon, & Renerre, 1998) and chicken muscle (1.5 nmoles /mg protein) (Liu & Xiong, 1996).

As far as we know, the present study is the first data to show that protein oxidation in raw meat from Iberian pig and dry-cured meat products takes place. Estevez and Cava (2004) reported lower values of carbonyl products in liver p ate from Iberian pigs compared to p at es from commercial pigs. Other authors have also shown increasing levels of protein oxidation throughout processing in raw meat and cooked products (Estevez & Cava, 2004; Rowe et al., 2004).

As described for induced lipid oxidation of LD, a protective effect of vitamin E supplementation against protein oxidation was observed. These results are in agreement with other authors who have reported a decrease in protein carbonyl compounds formation in stored *M. sartorius* of turkey (Mercier et al., 1998) and in oxidized microsomes of turkey muscle (Batifoulier, Mercier, Gatellier, & Renerre, 2002) as a consequence of vitamin E supplementation in the diet, but this is the first study in which this effect is shown for dry-cured meat products.

Though LD from IBP–MON pigs showed a low α -tocopherol content, the detected levels of γ -tocopherol found in these samples (Table 3), together with the probable presence of other antioxidants such as carotenoids, flavonoids or polyphenols could have helped to protect meat from these animals against lipid and protein oxidation. These types of antioxidant compounds have been reported in grass and acorns (Cantos et al., 2003) and some authors have even found higher contents of total

Table 6

Carbonyl content (nmoles/mg protein) in LD and dry-cured loins from IBP pigs reared in MON system, and IBP, D \times IB and IB \times D pigs reared in confinement with HOVE mixed diet or CON mixed diet

	IB \times D–HOVE	IBP–HOVE	D \times IB–HOVE	IB \times D–CON	IBP–MON
LD	1.37 ^{ab} \pm 0.21	1.30 ^{ab} \pm 0.36	1.29 ^{ab} \pm 0.23	1.56 ^a \pm 0.16	1.03 ^b \pm 0.16
Dry-cured loin	1.41 ^{c,d} \pm 0.34	1.85 ^{bc} \pm 0.32	2.00 ^{ab} \pm 0.17	2.43 ^a \pm 0.19	1.38 ^d \pm 0.29

Values are means \pm standard deviation.

Means with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

Table 7
Pearson's correlation coefficients (R^2) between protein oxidation values in both LD and dry-cured loin and MDA contents, total PUFA from PL and α -tocopherol in LD, and TBA numbers and hexanal contents in dry-cured loin

	Protein oxidation	
	LD	Dry-cured loin
MDA values ^a	0.55**	0.52**
PUFA from PL fraction	0.25	0.51**
α -tocopherol	-0.24	-0.33
PUFA/ α -tocopherol	0.62**	0.63**
TBARS	-0.02	0.06
HEXANAL	0.11	-0.21

^a 200 min.

polyphenols in fat from free reared Iberian pigs than in those fed on concentrates (Gonzalez, Tejada, Moltiva, & Romero, 2004).

Several authors have suggested a possible correlation between lipid and protein oxidation (Estevez & Cava, 2004; Mercier et al., 2004, 1998; Viljanen et al., 2004). Table 7 shows Pearson's correlation coefficients between levels of MDA in induced lipid peroxidation of LD muscle at 200 min, TBARS and hexanal content of dry-cured loin and protein oxidation in LD and dry-cured loin. A significant correlation ($R^2 = 0.55$ $p < 0.01$ for LD and $R^2 = 0.53$ $p < 0.01$ for dry-cured loin) with MDA at 200 min was observed, whereas neither TBARS nor hexanal showed a significant correlation. Both primary (hydroperoxides) and secondary (aldehydes and ketones) lipid oxidation products can react with proteins and in that way cause protein oxidation (Kikugawa, Kato, & Haya-saka, 1991). Particularly, exogenous carbonyls can be introduced into proteins by reactions of 4-OH-nonenal, a product of lipid oxidation, with residues of lysine, histidine or cysteine (Xiong, 2000). The carbonyl complexes due to protein–lipid interaction are rapidly formed and are relatively stable, these protein carbonyl compounds being convenient markers of protein oxidation (Viljanen et al., 2004).

Additionally, the correlation coefficients between protein oxidation in LD and dry-cured loin and PUFA from PL and ratio PUFA/ α -tocopherol were high and significant except for LD and PUFA (Table 7). These correlations reinforce the link between lipid and protein oxidation. Furthermore, all these parameters (MDA in induced iron lipid oxidation, PUFA from PL and ratio PUFA/ α -tocopherol) seem to be suitable methods to predict not only the oxidative stability of lipids in muscle foods, but also that of proteins. From these correlations, it seems clear that diets rich in MUFA and supplemented with α -tocopherol are more effective in preventing lipid and protein oxidation in muscle foods that each strategy separately.

4. Conclusions

It can be concluded that dietary fat source and vitamin E supplementation influences the susceptibility of muscle lipid to undergo oxidative reactions. As far as we know,

this study reports for the first time information concerning protein oxidation in dry cured products suggesting that during the ripening of these products oxidation processes not only affect lipids but also proteins. Diets enriched with high oleic sunflower oil together with 250 ppm vitamin E appear to be a successful strategy to inhibit the development of lipid and protein oxidation in porcine muscles and dry-cured loins. In addition, the relationship between lipid and protein oxidation was confirmed. Finally, the ratio PUFA from PL/ α -tocopherol content and MDA values from induced lipid oxidation seem to be suitable indicators of both lipid and protein oxidation susceptibility in LD and dry-cured loin.

Acknowledgements

Sonia Ventanas and Mario Estevez thank the 'Ministerio de Educación' for the 'FPU' grant and the 'Junta de Extremadura' for the contract and support, respectively. This study was supported by the "Ministerio de Ciencia y Tecnología" project entitled "Hacia el establecimiento de predictores de calidad en la materia prima y en productos del cerdo ibérico mediante parámetros físico-químicos (ULTRAFAT)" (Project AGL 2001-6932-01).

The authors are grateful to "Hoffman- La Roche" industry for providing us the vitamin E and to Dr. Jesús Ventanas Barroso for his contribution and scientific advice during the development of this study.

The authors are thankful to Elena Gonzalez, Natividad Hurtado and Ana Galaz for their technical assistance.

References

- Andres, A. I., Cava, R., Ventanas, J., Muriel, E., & Ruiz, J. (2004). Lipid oxidative changes throughout the ripening of dry-cured Iberian hams with different salts contents and processing conditions. *Food Chemistry*, 84, 375–381.
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists (1990). In S. Williams, V. A. Arlington (Eds.), Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists.
- Batifoulier, F., Mercier, Y., Gatellier, P., & Renner, M. (2002). Influence of vitamin E on lipid and protein oxidation induced by H₂O₂-activated MetMb in microsomal membranes from turkey muscle. *Meat Science*, 61, 389–395.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911–917.
- Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. In S. Fleischer & L. Parker (Eds.), *Methods in enzymology* (Vol. 52, pp. 302). New York: Academic Press.
- Cantos, E., Espín, J. C., Lopez-Bote, C. J., de la Hoz, L., Ordoñez, J. A., & Tomas-Barberan, A. T. (2003). Phenolic compounds and fatty acids for acorns (*Quercus* spp.), the main dietary constituent of Free-range Iberian Pigs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6248–6255.
- Carrapiso, A. I., Ventanas, J., & Garcia, C. (2002). Characterization of the most odor active compounds of Iberian ham headspace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1996–2000.
- 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 α -tocopheryl acetate supplementation. *Meat Science*, 52, 165–172.

- Cava, R., Ventanas, J., Tejeda, J. F., Ruiz, J., & Antequera, T. (2000). Effect of free-range rearing and α -tocopherol and copper supplementation on fatty acid profiles and susceptibility to lipid oxidation of fresh meat from Iberian pigs. *Food Chemistry*, 68, 51–59.
- Daza, A., Rey, A. I., Ruiz, J., & Lopez-Bote, C. (2005). Effects of feeding in free-range conditions or in confinement with different dietary MUFA/PUFA ratios and α -tocopheryl acetate, on antioxidants accumulation and oxidative stability in Iberian pigs. *Meat Science*, 69, 151–163.
- Decker, E. A., Xiong, Y. L., Calvert, J. T., Crum, A. D., & Blanchart, S. P. (1993). Chemical, physical and functional properties of oxidized turkey white muscle myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 186–189.
- Dobao, M. T., Rodriganez, J., & Silio, L. (1986). Heritability of a canalized trait-teat number in Iberian pigs. *Genetique Selection Evolution*, 18, 173–186.
- Estevez, M., & Cava, R. (2004). Lipid and protein oxidation, release of iron from heme molecule and colour deterioration during refrigerated storage of liver pâté. *Meat Science*, 68, 551–558.
- Fernandez, J., Perez-Alvarez, J. A., & Fernandez-Lopez, J. A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, 59(3), 345–353.
- Gandemer, G. (2002). Lipids in muscle and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62, 309–321.
- Gonzalez, E., Tejeda, J. F., Moltiva, M. J., & Romero, M. P. (2004). Phenolic compounds in subcutaneous adipose tissue from Iberian pigs. In *Proceedings 5ème Symposium. International sur le Porc Méditerranéen* 16–19 November, 2004, Tarbes, France. (pp. 31).
- Igene, J. O., & Pearson, A. M. (1979). Role of phospholipids and triglycerides in warmed-over-flavor development in meat model systems. *Journal of Food Science*, 44, 1285–1290.
- Kenaston, C. B., Wilbur, K. M., Ottolenghi, A., & Bernheim, F. (1955). Comparison of methods for determining fatty acid oxidation produced by ultraviolet irradiation. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 32, 33–35.
- Kikugawa, K., Kato, T., & Hayasaka, A. (1991). Formation of dityrosine and other fluorescent amino acids by reaction of amino acids with lipid hydroperoxides. *Lipids*, 26, 922–929.
- Kolodziejka, Y., Skonieczny, S., & Rubin, L. J. (1990). Malonaldehyde–nitrite interactions in meat and model systems. *Journal of Food Science*, 55, 925–928.
- Kornbrust, D. J., & Mavis, R. D. (1980). Relative susceptibility of microsomes from lung, heart, liver, kidney, brain and testes to lipid peroxidation: correlation with vitamin E. *Lipids*, 15, 315.
- Kwon, T., & Watts, B. M. (1964). Malonaldehyde in aqueous solution and its role as a measure of lipid oxidation. *Journal of Food Science*, 29, 294–302.
- Lauridsen, C., Krogh, J., Skibsted, L. H., & Bertelsen, G. (2000). Soreen Influence of supranutritional vitamin E and copper on α -tocopherol deposition and susceptibility to lipid oxidation of porcine membranal fractions of *M. Psoas* major and *M. Longissimus dorsi*. *Meat Science*, 54, 377–384.
- Liu, G., & Xiong, Y. L. (1996). Contribution of lipid and protein oxidation to rheological differences between chicken white and red muscle myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 779–784.
- Lopez-Bote, C. J. (1998). Sustained utilization of the Iberian Pig Breed. *Meat Science*, 49(1), 17–27.
- Lowry, M. O., Rosenberg, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with folin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265–275.
- Lynch, A., Kerry, J. P., Buckley, D. J., Morrissey, P. A., & Lopez-Bote, C. (2001). Use of high pressure liquid chromatography (HPLC) for the determination of α -tocopherol levels in forage (silage/grass) samples collected from different regions in Ireland. *Food Chemistry*, 72, 521–524.
- Mason, L. M., Hogan, S. A., Lynch, A., O'Sullivan, K., Lawlor, P. G., & Kerry, J. P. (2005). Effects of restricted feeding and antioxidant supplementation on pig performance and quality characteristics of *Longissimus dorsi* muscle from Landrace and Duroc pigs. *Meat Science*, 70, 307–317.
- Mercier, Y., Gatellier, P., & Renerre, M. (2004). Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. *Meat Science*, 66, 467–473.
- Mercier, Y., Gatellier, P., Viau, M., Remignon, H., & Renerre, M. (1998). Effect of fat and vitamin E on colour stability and lipid and protein oxidation in turkey meat during storage. *Meat Science*, 48, 301–318.
- Morrissey, P. A., Sheehy, P. J. A., Galvin, K., Kerry, J. P., & Buckley, D. J. (1998). Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, 49, 73–86.
- Muriel, E., Ruiz, J., Ventanas, J., & Antequera, T. (2002). Free-range rearing increase (n-3) polyunsaturated fatty acids of neutral and polar lipids in swine muscles. *Food Chemistry*, 78, 219–225.
- Nilzen, V., Babol, J., Dutta, P. C., Lundeheim, N., Enfält, A. C., & Lundström, K. (2001). Free range rearing of pigs with access to pasture grazing – effect on fatty composition and lipid oxidation products. *Meat Science*, 58, 267–275.
- Nuernberg, K., Fischer, K., Nuernberg, G., Kruechenmeister, U., Klosowaska, D., Eliminowska-Wenda, G., et al. (2005). Effects of dietary olive and linseed oil on lipid composition, meat quality, sensory characteristics and muscle structure in pigs. *Meat Science*, 70, 63–74.
- Oliver, C. N., Ahn, B. W., Moerman, E. J., Goldstein, S., & Stadtman, E. R. (1987). Aged-related changes in oxidized proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 262, 5488–5491.
- Rey, A., Lopez-Bote, C., Soares, M., & Isabel, B. (1996). Determination of α -tocopherol in pork with high intramuscular fat content. *Grasas y Aceites*, 47, 331–334.
- Rey, A. I., Isabel, B., Cava, R., & Lopez-Bote, C. J. (1998). Dietary acorns provide a source of γ -tocopherol to pigs raised extensively. *Canadian Journal of Animal Science*, 78, 441–443.
- Rowe, L. J., Maddock, K. R., Lonergan, S. M., & Huff-Lonergan, E. (2004). Influence of early post-mortem protein oxidation on beef quality. *Journal of Animal Science*, 82, 785–793.
- Ruiz, J., Antequera, T., Andres, A. I., Petron, M. J., & Muriel, E. (2004). Improvement of a solid phase extraction method for analysis of triacylglycerols in muscle foods. *Analytica Chimica Acta*, 520, 201–205.
- Ruiz, J., Cava, R., Antequera, T., Martín, L., Ventanas, J., & Lopez-Bote, C. (1998). Prediction of the feeding background of Iberian pigs using the fatty acid profile of subcutaneous, muscle and hepatic fat. *Meat Science*, 49(2), 155–163.
- Ruiz, J., García, C., Muriel, E., Andres, A. I., & Ventanas, J. (2002). Influence on sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science*, 61(4), 247–354.
- Salih, A. M., Smith, D. M., Price, J. F., & Dawson, L. E. (1987). Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poultry Science*, 66, 1483–1489.
- Sandler, S. R., & Karo, W. (1992). *Source book of advances organic laboratory preparations*. San Diego: Academic Press.
- Schaich, K. M. (1980). Free radical initiation in proteins and amino acids by ionizing and ultraviolet radiations and lipid oxidation. III: Free radical transfer from oxidizing lipids. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 13, 189–244.
- Shahidi, F., & Hong, C. (1991). Evaluation of malonaldehyde as a marker of oxidative rancidity in meat products. *Journal of Biochemistry*, 15, 97–105.
- SPSS, (1997). SPSS for Windows: Advanced statistic release, SPSS: Chicago.
- Viljanen, K., Kylli, P., Kivikari, R., & Heinonen, M. (2004). Inhibition of protein and lipid oxidation in liposomes by berry phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7419–7424.
- Xiong, Y. L. (2000). Protein oxidation and implications for muscle foods quality. In E. A. Decker, C. Faustman, & C. J. Lopez-Bote (Eds.), *Antioxidants in muscle foods* (pp. 85–111). New York: Wiley.

USE OF LOW INTENSITY ULTRASOUND IN MUSCLE LONGISSIMUS DORSI FROM PIGS WITH DIFFERENT GENETIC BACKGROUND

Ventanas S¹., Ventanas J¹., Ruiz J¹., Bon J.² y Benedito J.²

¹ Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Avd. Universidad s/n, 10002 CÁCERES, ESPAÑA.

² Tecnología de los Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia Cno. Vera s/n, 46071, VALENCIA, ESPAÑA.

INTRODUCTION AND AIM

Ultrasound has advantages over other traditional analytical techniques because measurements are rapid non-destructive, precise, fully automated and might be performed either in a laboratory or on-line. In this work, the use of low-intensity ultrasound on muscle *longissimus dorsi* to differentiate between raw meat from pure Iberian pigs (lb) and from Iberian x Duroc (lbxD) crossbreed pigs, was studied.

MATERIALS AND METHODS

Fat content determination (Bligh and Dyer, 1959) and measurements of ultrasonic velocity (V) at different temperatures (from 0°C to 20°C) (Simal y col., 2003) were carried out in *Longissimus dorsi* samples from different Iberian pig crossbreeds (pure Iberian-lb-, Iberian sow x Duroc boar-lbxD- and Duroc sow x Iberian boar -Dxlb-).

RESULTS AND DISCUSSION

Ultrasonic velocity decreased with the temperature (Fig.1) due to two effects, the negative temperature coefficient of UV in fat and the increase in the liquid content due to fat melting, which has a lower velocity than solid fat (McClements, 1997). This effect have been observed in previous works (Benedito y col., 2001; Anand Pal Singh y col., 2004). Measurements of ultrasonic velocity in muscle *longissimus dorsi* from lb were higher at low temperatures (0-10°C) and lower at temperatures over 10°C, than in those from lbxD pigs and Dxlb pigs. *Longissimus dorsi* muscles from lb pigs show significantly higher fat content than those from lbxD + Dxlb pigs (Fig.2). Therefore, fat melting content in lb batch is higher than in the others, which involves a higher fat/water proportion in *Longissimus dorsi* muscles from lb pigs.

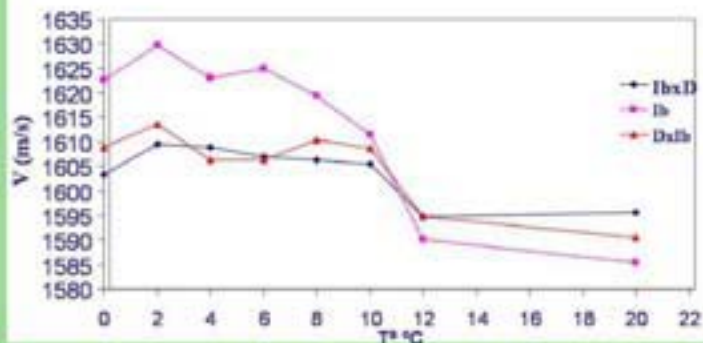


Figure 1. Evolution of ultrasonic velocity at different temperatures

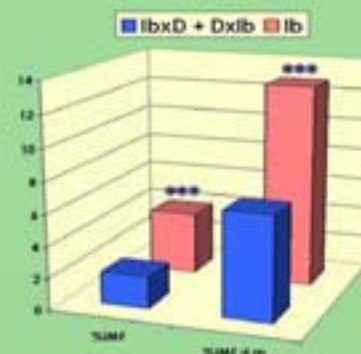


Figure 2. % of Intramuscular Fat Content (IMF) of muscle *longissimus dorsi* from pigs with different genetic background

***: significant differences ($p < 0.005$).

CONCLUSIONS

Measurement of the ultrasonic velocity in muscle *longissimus dorsi* can be used to differentiate between raw muscles *longissimus dorsi* from pure Iberian pigs and from Iberian x Duroc crossbreed pigs and to predict fat content.

REFERENCES

- Benedito J., Carcel J.A., Rosello C. and Mulet A. (2001). Composition assessment of raw meat mixtures using ultrasonic. *Meat Science*, 57, 365-370.
- McClements D.J. (1997). Ultrasonic characterization of food and drinks: principles, methods and applications. *Critical Reviews Science and Nutrition*, 37 (1), 1-46.
- Anand P. S., McClements D.J. and Marangoni A.G. (2004). Solid fat content determination by ultrasonic velocimetry. *Food Research International*, 37, 545-555.
- Simal S., Benedito J., Clemente G., Femenia A. and Roselló C. (2003). Ultrasonic determination of the composition of meat based products. *Journal Food Engineering*, 58, 253-257.
- Bligh E.G. and Dyer W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-017

USE OF LOW INTENSITY ULTRASOUND IN BACK FAT FROM PIGS WITH DIFFERENT GENETIC BACKGROUND

Ventanas S¹, Ventanas J¹, Jurado A¹, Cárcel J.A.² y Niñoles L.²

¹ Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Avd. Universidad s/n. 10002 CÁ CERES, ESPAÑA.

² Tecnología de los Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia Cno. Vera s/n, 46071, VALENCIA, ESPAÑA.

INTRODUCTION AND AIM

Low-intensity ultrasound can be used to provide information about the quality properties of foods. It is a useful, rapid and non-destructive technique of analysis. In this work, the use of low-intensity ultrasound on back fat as an objective and non-destructive analytical technique to differentiate between raw meat from pure Iberian pigs (Ib) and from Iberian x Duroc (IbxD) crossbreed pigs, was studied.

MATERIALS AND METHODS

Fat content determination (Bligh and Dyer, 1959) and measurements of ultrasonic velocity (m/s) at different temperatures (from 0°C to 20°C) (Simal y col., 2003) were carried out in back fat samples from different Iberian pig crossbreeds (pure Iberian-Ib-, Iberian sow x Duroc boar-IbxD- and Duroc sow x Iberian boar-DxIb-). Fatty acid methyl esters (López-Bote et al., 1997) (FAME) were analysed by gas chromatography (GC)-flame ionisation detector (FID).

RESULTS AND DISCUSSION

Ultrasonic velocity decreased with the temperature (Fig.1) due to two effects, the negative temperature coefficient of UV in fat and the increase in the liquid content due to fat melting, which has a lower velocity than solid fat (McClements, 1997). This effect has been observed in previous works (Benedito y col., 2001; Anand Pal Singh y col., 2004). Measurements of ultrasonic velocity (Fig.2) were significantly lower in back fat from Ib batch than in the IbxD batch counterpart. These results are probably due to the differences in fatty acid composition between the batches (Fig 3). Back fat from the Ib batch shows significantly higher percentages of monounsaturated fatty acids than that from the IbxD batches. Therefore, back fat from Ib was more fluid than IbxD back fat, which involves a decrease in ultrasonic velocity in the former.

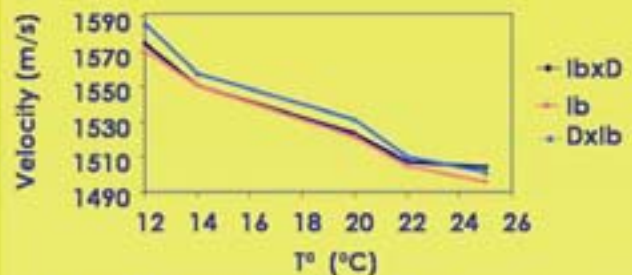


Fig.1. Influence of sample temperature on ultrasonic velocity.

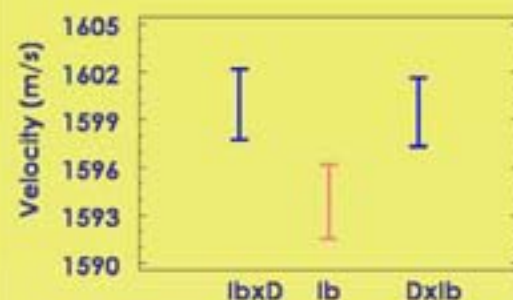


Fig.2. Means values of ultrasonic velocity (m/s) on back fat from pigs with different genetic background.

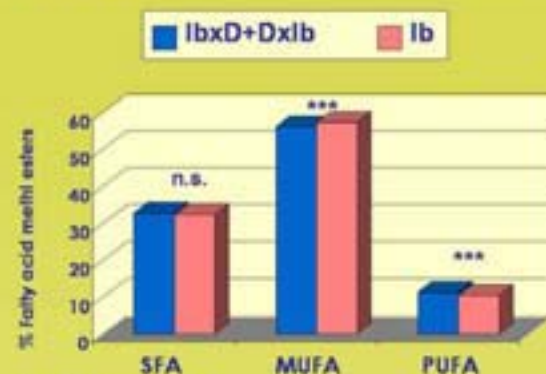


Fig.3. SFA, MUFA, PUFA, saturated fatty acids.

MUFA, monounsaturated fatty acids.

PUFA, polyunsaturated fatty acids.

***, significant differences ($p < 0.005$); n.s., non significant differences.

CONCLUSIONS

Measurement of the ultrasonic velocity in back fat could be used to differentiate between pure Iberian pigs and Iberian x Duroc crossbreed pigs

REFERENCES

- Benedito J., Cárcel J.A., Rosello C. and Mulet A. (2001). Composition assessment of raw meat mixtures using ultrasonic. *Meat Science*, 57, 365-370.
- McClements D.J. (1997). Ultrasonic characterization of food and drinks: principles, methods and applications. *Critical Reviews Science and Nutrition*, 37 (1), 1-46.
- Anand P. S., McClements D.J. and Marangoni A.G. (2004). Solid fat content determination by ultrasonic velocimetry. *Food Research International*, 37,545-555.
- Simal S., Benedito J., Clemente G., Femenia A. and Roselló C. (2003). Ultrasonic determination of the composition of meat based products. *Journal Food Engineering*, 58, 253-257.
- Bligh E.G. and Dyer W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-017
- López-Bote C.J., Rey A., Sanz M., Gray J.L. and Buckley J.D. (1997). Dietary vegetable oils and α -tocopherol reduce lipid oxidation in rabbit muscle. *Journal of Nutrition*, 127, 541-549.