



**ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA**  
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**MODIFICAÇÕES DAS PROTEÍNAS E PROTEÓLISE EM  
PRESUNTO CURADO**

**Engenharia Biológica e Alimentar**  
**Relatório do Trabalho de Fim de Curso**

Tiago Luís Cardoso Ferreira Pinhanços de Bianchi

—◆—  
**CASTELO BRANCO**

**2009**

# Índice

Índice de figuras	I
Índice de tabelas	II
Resumo	IV
Abstract	V

## VI. Introdução e objectivos

1. Introdução	1
2. O presunto curado	4
2.1 Processo de produção	4
2.2 Factores que influenciam a qualidade do presunto curado	5
2.3 Novas perspectivas de produção	8
3. Proteómica	9

## VII. Material e métodos

1. Quantificação do teor de proteína	14
1.1 Fundamento	14
1.2 Procedimentos	15
(a) Extracto sarcoplasmático	15
(b) Extracto peptídico	17
(c) Extracto centrifugado	18
(d) Extracto precipitado	18
1.3 Materiais e reagentes	19
1.4 Equipamento	20
2. Cromatografia de filtração em gel	21
2.1 Fundamento	21
2.2 Procedimentos	22
(a) Preparação das colunas de gel Sephadex G-50	22
(b) Preparação das colunas de gel Sephadex G-75	23
(c) Calibração das colunas	23
(d) Obtenção dos extractos	24
(e) Fraccionamento dos extractos	24
(f) Preparação da curva de calibração e cálculo das concentrações	25

2.3 Materiais e reagentes	26
2.4 Equipamento	26
3. Electroforese bidimensional (2-D)	27
3.1 Fundamento	27
3.2 Focalização isoelectrica	29
(a) Hidratação dos strips	29
(b) Preparação dos extractos	30
(c) Focalização isoelectrica propriamente dita	31
3.3 SDS-PAGE	33
(a) Polimerização dos géis	33
(b) Reequilíbrio e posicionamento das tiras de gel	33
(c) Preparação do sistema Ettan DALTsix para electroforese	34
(d) Revelação dos géis	35
3.4 Materiais e reagentes	36
3.5 Equipamento	36
<b>VIII. Resultados e discussão</b>	
1. Quantificação do teor de proteína	37
2. Cromatografia de filtração em gel	42
Referências bibliográficas	IX
Agradecimentos	XIII
<b>Anexo I</b>	
Caracterização da matéria-prima	45
1. Constituição proteica	45
2. Actividades proteolíticas musculares	46
3. Metabolismo muscular	47
<b>Anexo II</b>	
Preparação de soluções	48
1. Electroforese bidimensional (2-D)	48
(a) Focalização isoelectrica	48
(b) SDS-PAGE	50

## Resumo

O presunto curado é um produto cárneo cujo processo de produção consta de quatro fases: selecção da matéria-prima, salga, repouso ou pós-salga e cura. A qualidade do produto final é influenciada por diversos factores, nomeadamente as modificações sofridas pelas proteínas musculares, por acção de proteases como as calpaínas e as catepsinas. Dois dos principais defeitos de textura em presuntos curados, associados a uma elevada proteólise, são a adesividade e a pastosidade.

O presente trabalho propõe o estudo da influência das modificações das proteínas e da proteólise nos mecanismos de desenvolvimento de texturas defeituosas no presunto curado. Para tal utilizam-se procedimentos de quantificação proteica, como o método de Bradford, e de purificação das amostras, como o fraccionamento em colunas Sephadex (G-50 e G-75). Estes procedimentos constituem apenas etapas preliminares da realização de técnicas de proteómica, como a electroforese (SDSPAGE) e a cromatografia (HPLC), que conduzem a uma elevada resolução e identificação das proteínas.

Palavras-chave: Proteólise; Presunto curado; Bradford; Sephadex; Proteómica.