

ÍNDICE

1. Introducción.....	3
1.1. Calidad de la carne de cerdo y sus productos cárnicos.....	4
1.1.1. Carne.....	4
1.1.2. Embutidos curados fermentados.....	9
1.1.2.1. Importancia del proceso de fabricación.....	10
1.1.3. Jamón curado.....	12
1.1.3.1. Importancia del proceso de fabricación.....	14
1.2. Principales cambios bioquímicos en la carne y productos cárnicos curados durante la maduración.....	17
1.2.1. Glucólisis.....	17
1.2.2. Proteólisis	19
1.2.3. Lipólisis.....	24
1.2.4. Transformación de nucleótidos y nucleósidos.....	26
1.2.5. Generación de aminas biógenas.....	30
1.2.6. Otros cambios debidos a reacciones químicas.....	33
1.3. Métodos analíticos para la determinación de nucleótidos y sus derivados y de aminas biógenas en la carne y productos cárnicos.....	35
1.3.1. Nucleótidos y sus derivados.....	35
1.3.2. Aminas biógenas.....	37
1.4. Biosensores.....	38
1.4.1. Clasificación de los biosensores por su elemento de reconocimiento...	39
1.4.1.1. Biosensores catalíticos.....	39
1.4.1.2. Biosensores por afinidad.....	40
1.4.2. Clasificación de los biosensores por su tipo de transducción.....	40
1.4.2.1. Biosensores electroquímicos.....	40
1.4.2.2. Biosensores ópticos.....	43
1.4.2.3. Biosensores térmicos.....	44
1.4.2.4. Biosensores piezoeléctricos.....	44

1.4.3. Sensores enzimáticos.....	45
1.4.3.1. Inmovilización de la enzima.....	48
1.4.3.1.1. Materiales soporte para la inmovilización de la enzima.....	49
1.4.3.1.2. Materiales de construcción del transductor.....	51
1.4.3.2. Principio de operación.....	51
1.4.4. Aplicación de los sensores enzimáticos en el sector cárnico.....	53
2. Objetivos.....	63
3. Plan de Trabajo.....	67
4. Materiales y Métodos.....	73
4.1. Materiales.....	73
4.1.1. Materias Primas.....	73
4.1.2. Reactivos químicos.....	74
4.1.3. Instrumentación.....	76
4.2. Métodos de fabricación, seguimiento y obtención de muestras.....	77
4.2.1. Maduración de la carne.....	77
4.2.2. Fabricación del embutido fermentado curado.....	78
4.2.3. Fabricación del jamón curado.....	80
4.3. Métodos analíticos.....	83
4.3.1. Extracción de nucleótidos y sus derivados.....	83
4.3.2. Determinación de nucleótidos y sus derivados por HPLC.....	84
4.3.2.1. Análisis en carne.....	84
4.3.2.1.1. Cromatografía en fase reversa con par iónico (IP-RP-HPLC).	84
4.3.2.1.2. Cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC).....	84
4.3.2.2. Análisis en productos curados.....	86
4.3.2.2.1. Cromatografía en fase reversa (RP-HPLC).....	86
4.3.2.3. Rectas de calibrado.....	87
4.3.3. Determinación de hipoxantina con el sensor enzimático.....	88
4.3.3.1. Sistema enzimático con la enzima libre.....	90

4.3.3.1.1. Evolución de la reacción enzimática.....	91
4.3.3.2. Sistema enzimático con la enzima inmovilizada.....	91
4.3.3.2.1. Inmovilización de la enzima xantina oxidasa.....	91
4.3.3.3. Ensayos de validación del sensor enzimático.....	93
4.3.4. Extracción de aminas biógenas.....	94
4.3.5. Determinación de aminas biógenas en productos curados por IP-RP- HPLC y derivatización post-columna.....	94
4.3.6. Determinación de aminas biógenas con el sensor enzimático.....	95
4.3.6.1. Inmovilización de la enzima diamina oxidasa.....	96
4.3.6.2. Ensayos de validación del sensor enzimático.....	97
4.4. Análisis estadístico de resultados.....	98
5. Resultados y Discusión.....	101
5.1. Puesta a punto y optimización del sensor enzimático.....	102
5.1.1. Sensor enzimático con la enzima xantina oxidasa.....	103
5.1.1.1. Sistema enzimático con la enzima libre.....	105
5.1.1.2. Sistema enzimático con la enzima inmovilizada.....	111
5.1.1.3. Estudio de la oxidación de la hipoxantina.....	118
5.1.2. Sensor enzimático con la enzima diamina oxidasa.....	119
5.1.2.1. Inmovilización de la enzima diamina oxidasa.....	121
5.2. Evolución nucleótidos y sus derivados analizados por HPLC en la carne y productos cárnicos.....	128
5.2.1. Maduración de la carne.....	129
5.2.1.1. Evolución de nucleótidos y sus derivados por IP-RP-HPLC.....	131
5.2.1.2. Optimización del método cromatográfico HILIC.....	135
5.2.1.2.1. Carne fresca.....	135
5.2.1.2.2. Productos cárnicos.....	143
5.2.2. Proceso de curado de un embutido fermentado.....	144
5.2.2.1. Evolución de los parámetros fisicoquímicos.....	146
5.2.2.2. Evolución de nucleótidos y sus derivados por RP-HPLC.....	149

5.2.3. Proceso de curado de jamón.....	154
5.2.3.1. Evolución de los parámetros fisicoquímicos.....	155
5.2.3.2. Evolución de nucleótidos y sus derivados por RP-HPLC.....	157
5.3. Determinación de hipoxantina con el sensor enzimático y su correlación con los valores obtenidos por análisis cromatográfico.....	162
5.3.1. Maduración de la carne.....	163
5.3.2. Proceso de curado de un embutido fermentado.....	167
5.3.3. Proceso de curado de jamón.....	173
5.4. Determinación de la generación de aminas biógenas en los productos cárnicos por HPLC.....	176
5.4.1. Embutidos fermentados curados.....	177
5.4.2. Jamón curado.....	183
5.5. Determinación de aminas biógenas en los productos cárnicos analizados con el sensor enzimático y su correlación con HPLC.....	187
5.5.1. Embutidos fermentados curados.....	187
5.5.2. Jamón curado.....	188
6. Conclusiones.....	345
7. Bibliografía.....	195
8. Anexos.....	217
A. <i>Hypoxanthine-based enzymatic for determination of pork meat.....</i>	219
B. <i>Hydrophilic interaction chromatographic determination of adenosine triphosphate and its metabolites</i>	227
C. <i>Hydrophilic interaction chromatographic (HILIC) in the analysis of relevant quality and safety biochemical compounds in meat, poultry and processed meats.....</i>	237
D. <i>Nucleotides and its derivated compounds during the processing of dry-cured ham and its detection with an enzyme sensor.....</i>	249

