

Detección de ADN porcino en productos cárnicos comerciales por qPCR

Guidi, Silvina ^(1,2,3); Ambrosi, Vanina ^(1,2,3,4); Dolosa, Sasha ⁽⁵⁾; Nanni, Mariana S. ⁽⁶⁾; Diaz, Gabriela E. ^(1,2,3)

1- Instituto Tecnología de Alimentos (ITA), CIA (Centro de Investigación de Agroindustria), INTA, De los reseros y de las Cabañas s/n, Hurlingham, Bs. As., Argentina. 2- ICYTESAS (UEDD INTA-CONICET), De los reseros y de las Cabañas s/n, Hurlingham, Bs.As., Argentina. 3- ESILYCA, UM, Cabildo 134, Morón, Bs.As., Argentina. 4- FFyB, UBA, Junín 954, CABA, Bs.As., Argentina. 5- Departamento de Ciencias Aplicadas y Tecnología, Universidad Nacional de Moreno, Bs. As. Argentina. 6- CIA, INTA, De los Reseros y de las Cabañas s/n, Hurlingham, Bs.As. Argentina
mail: guidi.silvina@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La carne vacuna es una de las principales fuentes de alimentación en nuestro país, por su aporte de proteínas de alto valor biológico y características organolépticas. Dentro de los productos cárnicos, se denomina Hamburguesa al producto elaborado en su totalidad con carne (grasa \leq 20%), mientras que Medallón admite hasta 50% de grasa, además de la incorporación de otros ingredientes (almidón \leq 5%; proteínas de soja \leq 2%). El Capítulo V del Código Alimentario Argentino (CAA) establece los requisitos que complementan la información obligatoria con la que deben contar los rótulos de los alimentos envasados; este permite suministrar al consumidor información respecto de la composición y las propiedades nutricionales, así como su conservación y manipulación. Garantizar la genuinidad de alimentos es un tema crucial en la industria alimentaria, por lo que es importante contar con métodos de detección que permitan determinar la presencia de ingredientes no declarados (agregados voluntariamente o presenten por contacto cruzado), en las diferentes etapas de elaboración y/o transporte de un determinado producto.

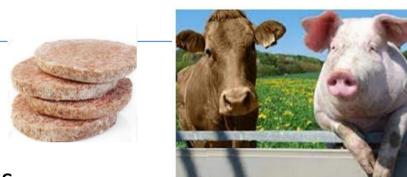
OBJETIVO

Evaluar la aptitud del método de qPCR desarrollado en el laboratorio para determinar la presencia de ADN de cerdo en hamburguesas y/o medallones de carne vacuna comerciales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras comerciales

Se analizaron 1 muestra de hamburguesa y 3 de medallones de carne. Como controles positivos se analizó muestras de carne vacuna y porcina puras.



ADN

Extracción de ADN a partir de 25 mg de muestra, utilizando resina Chelex (BioRad).

Cuantificación por Qubit 2.0 (dsDNA BR Kit, Thermofisher Scientific).

qPCR

Master mix: 5 μ L de SsoFast™ EvaGreen® Supermix (Bio-Rad), y 0,3 μ L (300nM conc. final) de los primers específicos para el gen COI de bovino (*Bos taurus*) y el gen Cyt b de porcino (*Sus scrofa*), en reacciones independientes, conteniendo 2 μ L (100-200 pg) de ADN por muestra. Vol. final: 10 μ L. Condiciones de la amplificación: 3' - 98 °C, 40 ciclos - 98 °C - 5'' y 30'' - 60 °C seguido por una curva de desnaturalización de los productos amplificados (60 a 90 °C; 0,3 °C 2 - 5 seg/ciclo)

RESULTADOS

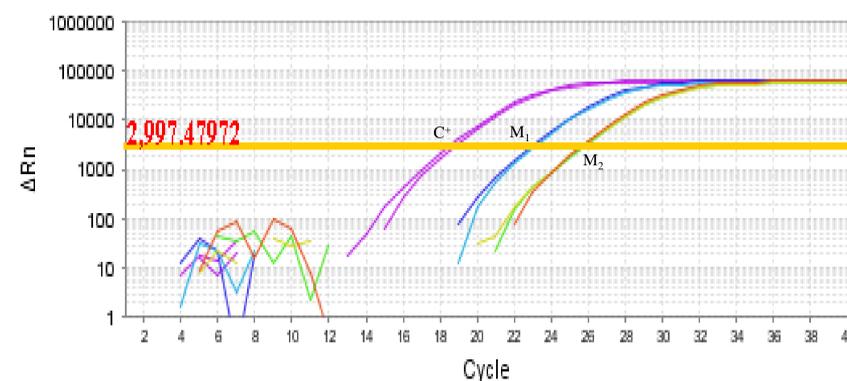
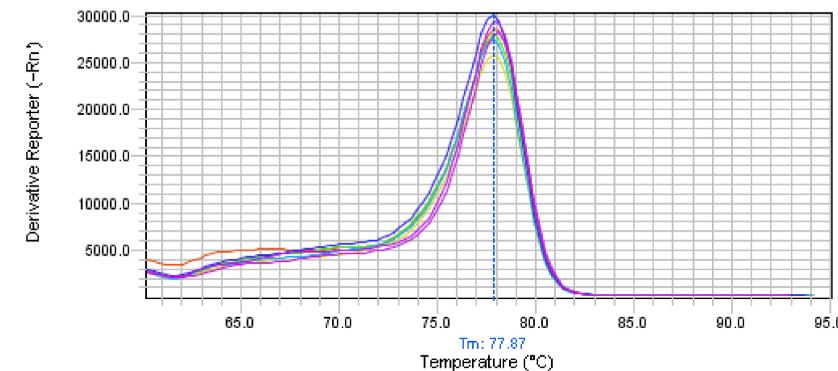


Gráfico de amplificación

Δ Ct superior a 33 fue considerado amplificación negativa



Curva de desnaturalización

Producto: Denominación de venta	Lista de ingredientes	qPCR cerdo
Medallón de carne vacuna supercongelado, libre de gluten, sin TAAC	carne vacuna, proteína aislada de soja, sal, azúcar, especias, emulsionante, INS 325-339iii-450iii-450iii-452i-331ii, resaltador de sabor INS 621, antioxidante INS 330-300-316, colorante INS 120.	+
Medallón de carne vacuna, con soja supercongelada	carne vacuna, agua, proteína texturizada de soja (7,5%), sal, pimienta blanca molida, nuez moscada molida, estabilizante INS 452i, antioxidante INS 316.	+
Medallón de carne vacuna, con soja supercongelada	carne bovina, agua, proteína texturizada de soja (8,4%), almidón, sal, saborizante, emulsionante: polifosfato de sodio, resaltadores de sabor: glutamato de sodio, antioxidante: ácido ascórbico - eritorbato de sodio, colorante carmin de cochinilla.	-
Hamburguesa de carne vacuna supercongelada, libre de gluten, sin TAAC	carne vacuna, sal, agua, estabilizante polifosfato de sodio, resaltador de sabor glutamato monosódico, saborizante natural de pimienta, estabilizante de color: ácido nítrico.	-

CONCLUSIÓN

La metodología desarrollada ha demostrado ser simple, específica, sensible y rápida para la identificación de ADN porcino como posible adulterante presente en alimentos cárnicos comerciales, con potencial de ser implementado en laboratorios de análisis, como herramienta de control