



DETECCIÓN MEDIANTE UN SISTEMA ELISA DE GLUCOMACROPEPTIDO (GMP) COMO INDICE DE ADULTERACIÓN DE LECHE CON SUERO DE QUESERÍA

Norma A. Chávez, Eva Salinas, Juan Jáuregui, Laura A. Palomares, Fernando Bon, Julia Rodríguez.

Depto. de Ingeniería Bioquímica, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes, México. Av. Universidad # 940, 20100 Ags México. Tel. y Fax (449) 9108410, e-mail: nachavez@correo.uaa.mx.

Palabras clave: *Glucomacropéptido, leche, ELISA*

Introducción. Industrias comercializadoras y procesadoras de leche tienen problemas de adulteración de leche con suero de quesería, debido a su bajo costo y a que este no se percibe sensorialmente ni por los métodos fisicoquímicos de rutina. De los métodos más usados para detectar y lactosuero se encuentra la detección y cuantificación de un glucomacropéptido (GMP) que está presente sólo en suero de quesería y no en leche. Los métodos instrumentales existentes para detectar GMP requieren mucho trabajo y tiempo, presentan problemas de sensibilidad y precisión a bajas concentraciones.

En este trabajo se desarrolló un sistema de detección sencillo, rápido, sensible y cuantitativo, basado en una reacción inmunológica, mediante la técnica ELISA para detectar GMP como indicador de la presencia de lactosuero.

Metodología. Se desarrolló un sistema ELISA tipo sándwich, para el cual se conjugaron anticuerpos puros anti-GMP con un éster de la biotina utilizando un estuche comercial: Immunoprobe™ Biotinylation kit (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany). Anticuerpos anti-GMP se fijaron a una fase sólida y actuaron como anticuerpos de captura del antígeno problema (GMP o suero de quesería). Los antígenos fueron reconocidos por los mismos anticuerpos conjugados con la biotina y el complejo formado se detectó con el conjugado comercial de ExtrAvidina /peroxidasa®. Para validar el método ELISA sándwich para detectar suero de quesería en leche, se determinaron los siguientes parámetros: precisión, exactitud, reproducibilidad, límite de detección y límite de cuantificación (1).

Resultados y discusión. Con el inmunoensayo ELISA desarrollado se tuvo una sensibilidad de 0.1% (v/v) de suero líquido en leche. El tiempo de análisis con este método es de 3.5 h. El sistema ELISA desarrollado para detectar suero de quesería resultó ser mejor que otros métodos que se reportan como son SDS-PAGE Electroforesis capilar (2) y HPLC (3), ya que el método resultó ser más sensible a concentraciones menores, además de que es más sencillo de realizar y, requiere menor tiempo pues no se necesita purificar el GMP y no utiliza equipo y materiales complejos y caros. Además, por el ELISA se pueden analizar varias muestras al

mismo tiempo. El sistema ELISA desarrollado es *preciso*, pues se tuvo un coeficiente de variación (CV) de 5.9 y Crowther (2001) afirma que con un $CV \leq 15$ hay evidencia de que un ensayo es preciso. Además mediante la prueba t de Student se demostró que el sistema ELISA desarrollado es *exacto*. El método también resultó *específico* ya que productos lácteos sin suero de quesería o sin GMP (según especificaciones en la etiqueta) no dieron reactividad con los anticuerpos anti-GMP.

Conclusiones. En este trabajo se logró desarrollar un método mediante inmunoensayo para detectar adulteración de leche de vaca con suero de quesería. Este se basó en la detección de un glucomacropéptido (GMP) que está presente sólo en suero de quesería pero no en leche. El método desarrollado resultó ser más sensible, rápido, exacto, específico y preciso que otros métodos que se han desarrollado hasta ahora. El sistema desarrollado es una buena alternativa para aplicarse en el análisis de leche en programas oficiales de inspección y/o en las industrias lácteas.

Agradecimiento. A la Universidad Autónoma de Aguascalientes, proyecto PIBT06-9.

Bibliografía

1. ICH Harmonised Tripartite Guideline Q2. 2000. Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology Q2(R1). <http://www.tga.gov.au/docs/pdf/tgmp0201g.pdf>
2. Alcázar MC, Rosas J, Jaramillo AC, Peña S. 2000. Detección de glucomacropéptido (GMP) como indicador de adulteración con suero de quesería en leche deshidratada. *Vet Mex.* 37(3):217-22.
3. Galindo L, Valbuena E, Rojas E. 2006. Estandarización de la detección del glucomacropéptido por PAGE-SDS como índice de adulteración de leche. *Revista Científica FCV-LUZ* 16(3):308-314.
4. Crowther J. 2001. The ELISA guidebook. Humana Press. Totowa New Jersey. 415 p