



DETECCIÓN DE LA ADULTERACIÓN DE LECHE DE OVEJA CON SUERO DE QUESERÍA, MEDIANTE INMUNOBLOT

Norma Angélica Chávez, Eva María Salinas Miralles, Juan Jáuregui Rincón, Iliana Ernestina Medina Ramírez, Ivonne Chaidés, Elizabeth Verónica Moreno, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Dpto. de Ingeniería Bioquímica y Dpto. de Microbiología, Aguascalientes CP. 20131, nachavez@correo.uaa.mx.

Palabras clave: glicomacropéptido, suero de quesería, inmunoblot.

Introducción. La leche ovina es un producto muy valorado por sus cualidades gastronómicas, nutracéuticas, su inocuidad para personas intolerantes a leche de vaca. Tiene una alta cotización en el mercado, sin embargo, una práctica frecuente en esta es la adulteración de esta con suero de quesería (SQ). Por tanto es necesario un método rápido, efectivo y sensitivo para detectar SQ en leche de oveja (1). Los inmunoensayos cumplen estos requisitos. Existen varios métodos para determinar la presencia de SQ basados en la detección de un glicomacropéptido (GMP), que está presente sólo en SQ y no en leche, pero ninguno de estos métodos está enfocado a la detección del GMP ovino (GMPo). (2)

El objetivo de este trabajo fue determinar la reactividad de anticuerpos policlonales anti-glicomacropéptido bovino (que ya se tenían) frente al GMPo para posteriormente poder determinar la presencia de SQ ovino.

Metodología. Extracción de GMPo: muestras líquidas de SQ de oveja fueron mezclados con una solución de ácido tricloroacético (TCA) a una concentración final de 0,49 mol.L⁻¹, a fin de precipitar la κ-caseína que reacciona de forma cruzada con el GMP. Para recuperar y concentrar el GMPo, se dio un segundo tratamiento con TCA a una concentración final de 0,86 mol.L⁻¹(1). Se recuperó el precipitado que se disolvió en 300 µl de PBS. Las muestras de proteína se separaron por SDS-PAGE al 13.5%. Las proteínas se electrotransfirieron a membranas de difluoruro de polivinilideno. La detección de GMPo se realizó con anticuerpos policlonales anti-GMP bovino y con el anticuerpo secundario con fosfatasa alcalina conjugada (3).

Resultados. Los anticuerpos policlonales anti-GMP bovino detectaron dos fracciones de proteína (PM de 14.1 y 10.2 kDa) correspondiente a GMPo. Esta última fracción fue menos abundante según se aprecia por la intensidad de color y tiende a desaparecer conforme disminuye la concentración de suero de quesería de oveja, lo que indicaría que se encuentra en menor cantidad. En la muestra de GMPb comercial las dos bandas proteicas tienen PM de 13.92 y 9.78 kDa (figura 1). Estas bandas corresponden al GMP en diferentes estados de agregación(2). La eficiencia de este procedimiento se demostró mediante inmunoblot de muestras de leche de oveja sin SQ con el fin de

determinar si en el análisis por la técnica de inmuno blot había interferencia con los componentes de la leche, sin embargo, no se observaron bandas proteicas en la leche sin SQ, lo que indica que no hubo reactividad cruzada de los anticuerpos anti-GMPb con los componentes de la leche de oveja y que hubo una remoción total de la κ-caseína. El límite más bajo de SQ detectado en leche fue de hasta 5% (v/v).

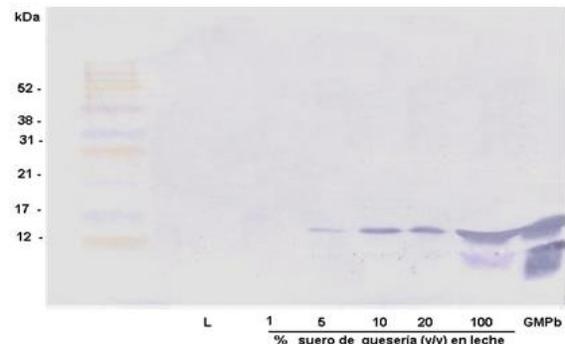


Figura 1. Inmuno blot para probar reactividad de los anticuerpos policlonales anti-GMP bovino, frente al GMP ovino y determinar límite de detección. Se analizaron muestras de leche de oveja adulterada con concentraciones crecientes de suero de quesería líquido. L: 10 µL de leche de oveja procesada con TCA sin suero de quesería (control negativo). GMPb: 10 µg de GMP bovino puro (control positivo).

Conclusiones.

Los anticuerpos anti-GMPb fueron reactivos a GMPo. Esto es importante porque con estos anticuerpos se podría desarrollar un inmunoensayo más rápido y sensible como el ELISA para detectar y cuantificar SQ en leche de oveja de una manera rápida y precisa. Este inmunoensayo puede ser utilizado en las industrias de la leche para detectar adulteración de la leche de oveja con suero de quesería.

Agradecimiento. Este proyecto de investigación (PIBT10-4) recibió el apoyo de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Bibliografía.

- López-Calleja I, González A, Fajardo V, Rodríguez M, Hernández P, García T. (2005). *J. Dairy Sciences*. vol (88), 3115-3120, 2005.
- Alcázar MC, Rosas J, Jaramillo AC, Peña S. (2000). *Vet Mex*. (3): 17-22.
- Chávez-Vela N. A., Salinas-Miralles E., Palomares L. A., Macías K. E y Jiménez M. (2011), *Dairy Sci Technol*. vol (92): 121-132.