

# Jornada regional de difusión de los proyectos AGROALNEXT-MU

# AGROALNEXT

## Jornada 2

### Desarrollos de Nuevos Alimentos Funcionales y Mejora de la Seguridad en el Sector Agroalimentario

UPCT, lunes 19 de febrero de 2024

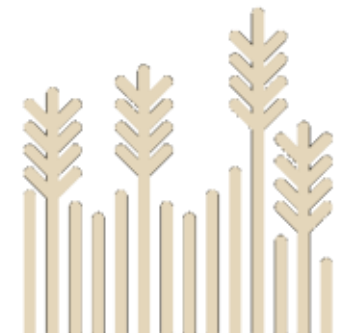
Este estudio forma parte del Programa AGROALNEXT que ha sido financiado por MCIN con fondos NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y por la Fundación Séneca con fondos de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (CARM).

This study formed part of the AGROALNEXT programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by Fundación Séneca with funding from Comunidad Autónoma Región de Murcia (CARM).



## *Estudio de las propiedades analíticas de los métodos moleculares (PCR e Inmunoensayo) para garantizar la calidad, seguridad y veracidad del etiquetado de alimentos destinados al consumo.*

Carmen M<sup>ª</sup> Albuquerque Pastor  
Universidad Católica San Antonio de Murcia-UCAM  
19/02/2023



# Antecedentes

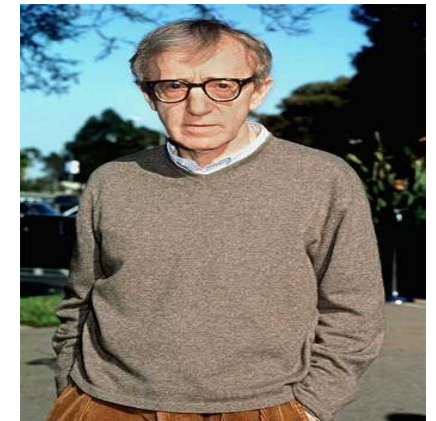
# AGROALNEXT

- **Percepción Social**

- ✓ Máximo nivel de seguridad e higiene alimentaria.
- ✓ Aumento del temor a los alimentos destinados al consumo.
- ✓ Binomio: Alimentación-Riesgo



- **Hábitos y tendencias de consumo**
  - ✓ En la década de los 70 nos importaba la productividad.
  - ✓ En la de los 80 la calidad.
  - ✓ En los 90 la S. Alimentaria.
  - ✓ En el siglo XXI la salud.
  - ✓ Hemos llegado a los alimentos “con y sin” y nos dirigimos a la alimentación personalizada (nutrigenómica).
  - ✓ Tras la crisis de las vacas locas los europeos vivimos en una auténtica paranoia alimentaria.



# Antecedentes

# AGROALNEXT

- **Situación actual**

- ✓ Conocimiento sustancial sobre los principales factores de riesgo.
- ✓ Gran capacidad analítica para detectarlos.
- ✓ Error: Ojos que no ven.....



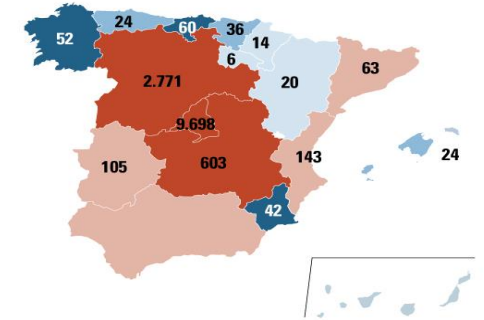
# Antecedentes

# AGROALNEXT

- **Casos aislados, poco frecuentes**
- ✓ Ocurren accidentes alimentarios importantes.
- ✓ Notoriedad medios comunicación.
- ✓ Excepciones regla general.
- ✓ Capacidad detectar peligros y atajarlos.
- ✓ Aumento Esperanza de vida-Mejoras Seguridad Alimentaria.

**AFECTADOS POR LA COLZA**

0 a 20    21 a 40    41 a 60    61 a 200  
+ 200



FUENTE: INSS.  
EL MUNDO GRÁFICOS





- **Riesgo alimentario: desbalances**

- ✓ Carencia y exceso alimentario.
- ✓ Dieta sesgada.
- ✓ Problemas origen complejo y solución difícil.
- ✓ Los demás riesgos palidecen ante estos.



Anorexia



Bulimia



Binge

- **Riesgo alimentario: sustancias que amenazan la inocuidad y autenticidad de los alimentos**

- ✓ Agentes biológicos patógenos.
- ✓ Aditivos legales e ilegales.
- ✓ Componentes tóxicos de los alimentos.
- ✓ Contaminantes.
- ✓ Nuevos alimentos.
- ✓ Genes añadidos.
- ✓ Fraudes alimentarios.



*Riesgo cero no existe en alimentación-Sensibilidad analítica*



- **Riesgo: Concienciación social: Legislación alimentaria**

Escándalo europeo de la miel: UPA pide actuaciones urgentes para poner fin al fraude

Etiquetas: miel, apicultura, consumo, Unión Europea, fraude, importaciones

UPA - 24/03/2023

**Irlanda detecta carne de caballo y cerdo en hamburguesas “de vacuno”**

BARBARA CELIS | Londres | 16 ENE 2013 - 22:44 C.E.T.

La investigación ha llevado a las grandes cadenas de supermercados a retirar los productos Las autoridades relacionan a España con la contaminación



**El brote de salmonela, vinculado a los tomates cherry, que afecta a varios países europeos deja un muerto y 92 casos**

ABC ABC: 01/08/2023

El primer brote se detectó en Francia el 22 de agosto de este año anterior. Ocurrió a raíz de un plato de ensalada mixta. El caso más reciente es del 24 de junio de este mismo año en Suecia

**Advertencia para personas alérgicas/intolerantes a la leche y a la soja: Ausencia de etiquetado precautorio en español (leche y soja) en galletas de cacao procedentes de Polonia (Ref. ES2023/234) 22/09/2023**



agencia española de seguridad alimentaria y nutrición

[https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad\\_alimentaria/alertas\\_alimentarias/listado/aecosan\\_lista\\_do\\_alertas\\_alimentarias.htm](https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/alertas_alimentarias/listado/aecosan_lista_do_alertas_alimentarias.htm)

- ✓ Planes de vigilancia y control más estrictos.
- ✓ Impedir que lleguen al mercado alimentos que no cumplan la normativa vigente.
- ✓ Métodos de referencia
- ✓ Complejos, caros, lentos..

[Operación OPSON XI en coordinación con Interpol y Europol](#)

65 personas detenidas e investigadas en 14 operaciones contra el fraude alimentario y de bebidas alcohólicas

📍 España, Europa



MINISTERIO DEL INTERIOR

📅 26/11/22

- **Rescapitulando**



- Desarrollar herramientas analíticas “ad hoc” basadas en el empleo de biorreceptores, en función del **tipo de alimento** (animal o vegetal), **presentación** al consumidor (fresco o procesado) y **origen del analito** diana:
  - i) Contaminantes bióticos o abióticos,
  - ii) Práctica fraudulenta derivada de la inclusión de una especie animal o vegetal no declarada, o no autorizada, en un alimento elaborado.

- Con las premisas descritas, se han planteado los siguientes **objetivos específicos**:
  - ✓ Desarrollo y validación de protocolos de inmunoensayo que permitan el análisis de residuos de sulfonamidas para el control agroalimentario. (Actividad 1)
  - ✓ Desarrollar protocolos de PCR en tiempo real con sondas TaqMan® específicas de grupos taxonómicos amplios (aves y mamíferos), combinadas con cebadores específicos de especie cuya diana es una secuencia mitocondrial, para identificación y cuantificación de especies. (Actividad 2)
  - ✓ Comparar los límites operacionales del sistema propuesto con sondas TaqMan® específicas con métodos inmunoquímicos comerciales basados en la detección de proteínas, y valorar las ventajas y posibles aplicaciones de unos y otros. (A2)
  - ✓ Evaluar la aplicación de la tecnología TaqMan® específicas cuya diana es una secuencia de cloroplasto, para la detección y cuantificación de ADN en alimentos de especies vegetales filogenéticamente próximas. (Actividad 3)
  - ✓ Validar un método de PCR para la detección y cuantificación del alérgeno soja en alimentos destinados al consumo. (Actividad 4)
  - ✓ Evaluación de la RTi-PCR para la detección directa del patógeno salmonella, en explotaciones y alimentos de contaminación natural. (Actividad 5)



# Resultados alcanzados

## Actividad 1

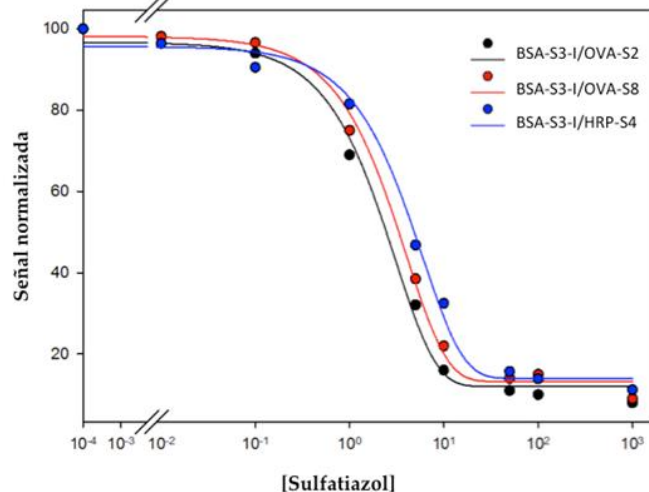
Se han optimizado métodos inmunquímicos en formato **ELISA** y **LFIA**, partiendo de receptores específicos para el control de STZ en miel.

Se ha optimizado un protocolo de tratamiento de muestra que permite eliminar efectos de la matriz.

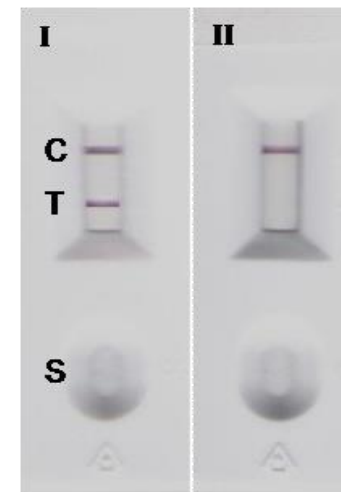
Se están evaluando kits ELISA comerciales.

Se han puesto a punto un método de validación (HPLC/MS) para sulfonamidas.

Se han adquirido muestras de miel de diferente origen y procedencia (, así como productos comerciales, para evaluar las prestaciones de los métodos inmunquímicos de análisis y el grado de contaminación.





	IC <sub>50</sub> (µg L <sup>-1</sup> )	A <sub>0</sub> (U.A.)	RD (µg L <sup>-1</sup> )	LD (µg L <sup>-1</sup> )
BSA-S3-I/HRP-S4 (Ensayo A)	4,8	0,69	1,2 - 16	0,4
BSA-S3-I/OVA-S2 (Ensayo B)	2,5	1,154	0,7 - 6,8	0,2
BSA-S3-I/OVA-S8 (Ensayo C)	3,2	1,18	0,8-10	0,4



Muestra de miel	STZ añadido (ng g <sup>-1</sup> )	Determinación visual (n positivo/n analizado)	STZ detectado por HPLC-MS (ng g <sup>-1</sup> )
A	0	0/12	<LD
B	1	0/12	<LD
C	5	0/12	<LD
D	10	5/12	11,1±0,2
E	15	12/12	15,8±1,5
F	20	12/12	22,5±3,0
G	50	12/12	48,3±3,2
H	100	12/12	89,4±7,0
I	200	12/12	212,3±14,4
J	500	12/12	476,5±16,2



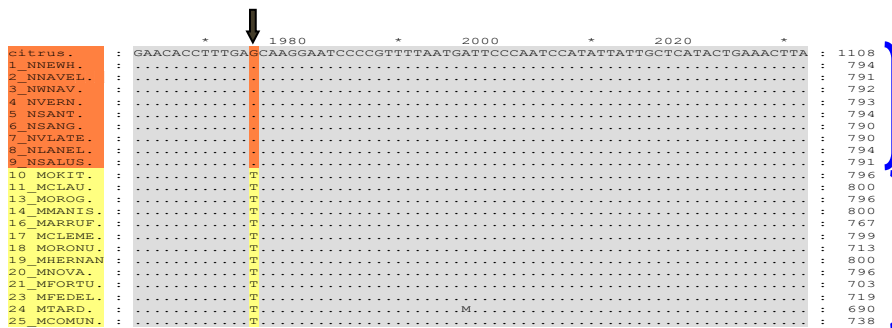
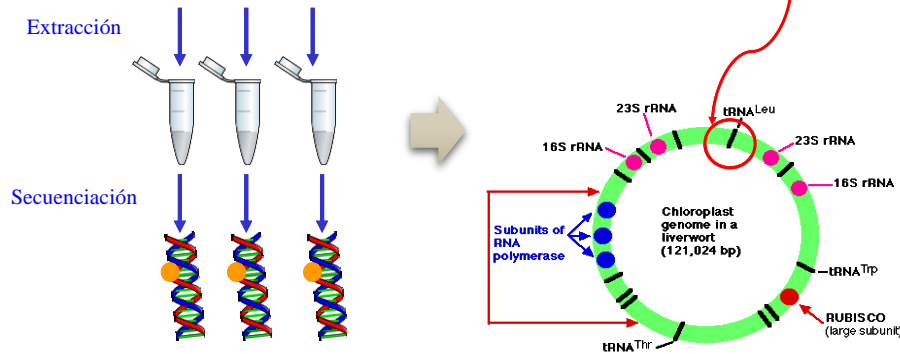
## Resultados alcanzados

	Variedad
	Narajas
	Newhall
	Navelate
	W. Navel
	Vernalina
	Santomera
	Sanguinelli
	Valencia Late
	Lanelate
Salustiana	
	mandarinas
	Okitsu
	Clauselina
	Orogrande
	Manisol
	Arrufetina
	Clemenules
	Oronules
	Hernandina
	Nova
Fortune	
<b>Híbridos</b>	
	Fedele
	Tardino
	Mandarina comun sin semilla

Genoma del Cloroplasto: 160129 pares de bases



Región secuenciada: 1275 pares de bases

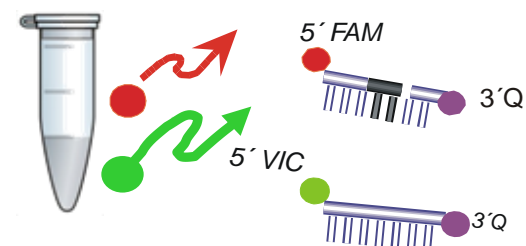


naranja  
mandarina

### Reacción en un solo tubo

Mismos Cebadores **CTR02F**

Distintas sondas **CTR02R**



## Actividad 3

Se han desarrollado **biorreceptores** para diferenciar naranja y mandarina en concentrados y zumos comerciales.

En concreto un juego de **cebadores comunes** para las dos especies y dos sondas TaqMan® (MGB) que se diferencian en una sola base, correspondiente al polimorfismo que identifica cada especie.

Se está en proceso de determinar las prestaciones de la PCR, selectividad, especificidad..

Para abordar la sensibilidad del método sobre mezclas elaboradas con diferentes % de ambas especies de cítricos.





## Actividad 2

Se han desarrollado detectores adecuados (primers y sondas) para diferenciar mamíferos (ternera, cerdo) y aves (pavo, pollo).

Se está procediendo a determinar la especificidad y sensibilidad, utilizando para ello muestras puras.

Se procederá a enriquecer muestras con diferentes %, optimizando un método de extracción idóneo para obtener buenos rendimientos de ADN en mezclas frescas y procesadas.

## Actividad 4

Se ha desarrollado un protocolo de PCR, para la identificación de las secuencias P35S y TNOS en alimentos susceptibles de contener soja (alérgeno).

Se está trabajando en el desarrollo de un protocolo para la cuantificación (RT-PCR) de soja en alimentos, previo a la aplicación a muestras reales.

## Actividad 5

Se dispone de un juego de cebadores y sonda específicos para Salmonella.

Se está evaluando su especificidad frente a otras bacterias patógenas.

Se determinará la sensibilidad de las RTi-PCRs individuales a partir de muestras de alimentos inoculadas con niveles conocidos de cada patógeno.

# Contacto:

Nombre: José Antonio Gabaldón Hernández

Correo electrónico: jagabaldon@ucam.edu

Teléfono: 605041916

# AGROALNEXT

# GRACIAS.

Este estudio forma parte del Programa AGROALNEXT que ha sido financiado por MCIN con fondos NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y por la Fundación Séneca con fondos de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (CARM).

This study formed part of the AGROALNEXT programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by Fundación Séneca with funding from Comunidad Autónoma Región de Murcia (CARM).



Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia

