

ALIBETOPÍAS

Nuevos territorios en Alimentación y Bebidas

Desarrollo de un método para la cuantificación de leches de diferentes especies en quesos de mezcla



ALIBETOPÍAS

Nuevos territorios en Alimentación y Bebidas

26 DE OCTUBRE DE 2023

Desarrollo de un método para la cuantificación
de leches de diferentes especies en quesos de
mezcla

Luis Mata Vallespín

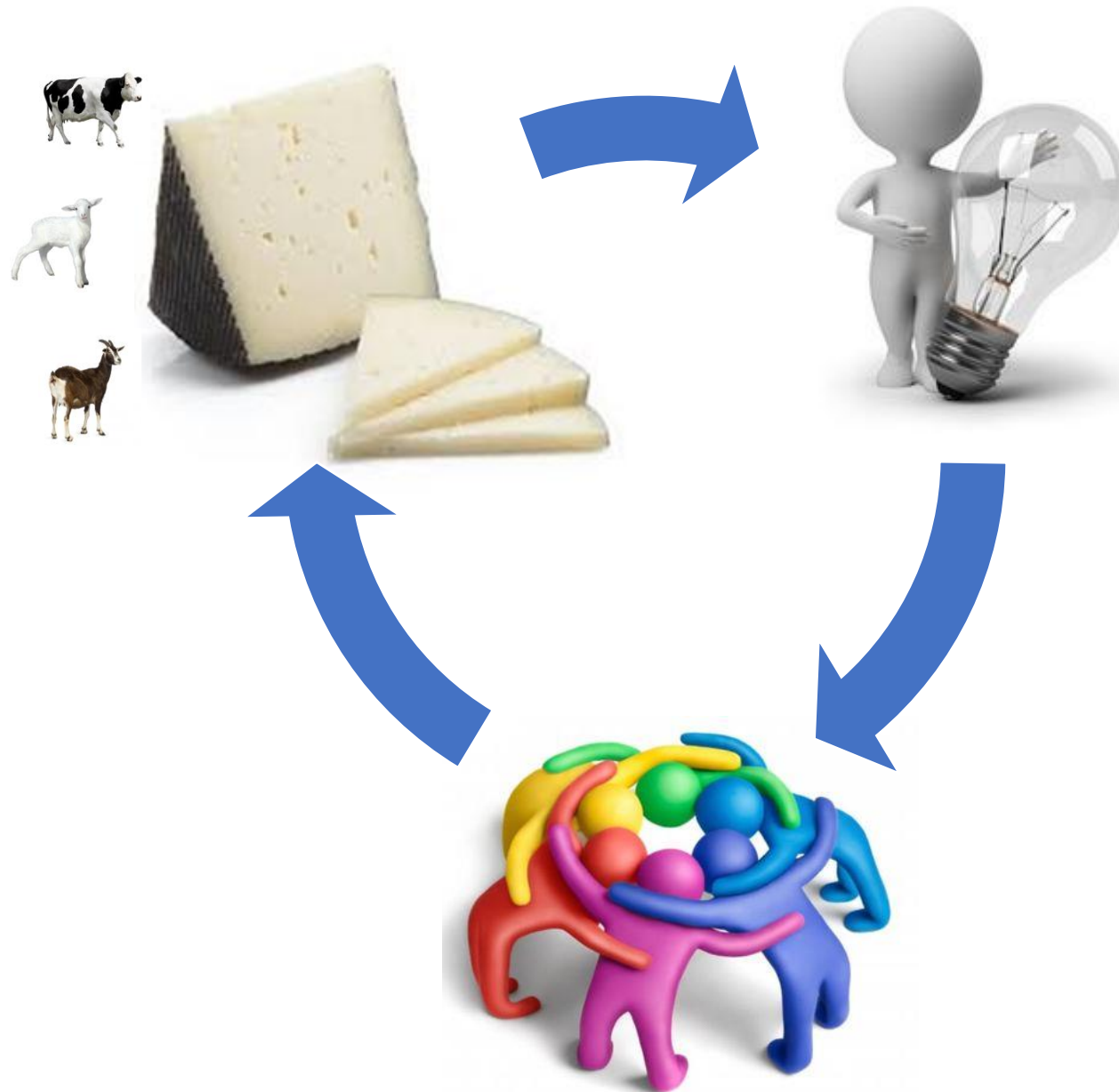
lmata@zeulab.com / www.zeulab.com



[alimentosdespaa.es](https://www.alimentosdespaa.es)



NECESIDAD – IDEA – EQUIPO



OBJETIVO DEL PROYECTO



Objetivo proyecto InLac:

Desarrollar una técnica de cuantificación en quesos que pudiese ser aplicada por los laboratorios de análisis.

- Validada para trasladarla a una norma oficial o de calidad.
- Para certificar la composición de mezcla de leches en queso.

El reto

- El método debía ser fiable y robusto.
- La complejidad analítica:
 - La variabilidad de la composición de la leche.
 - Los diferentes procesos de fabricación.
 - El grado de maduración del queso.





Tecnología: Proteómica dirigida PRM

Este método de cromatografía líquida acoplado a espectroscopía de masas está basado en la detección de péptidos específicos de especie. Éstos deben cumplir la condición de ser marcadores estables a lo largo de la vida del queso.

Patron de referencia

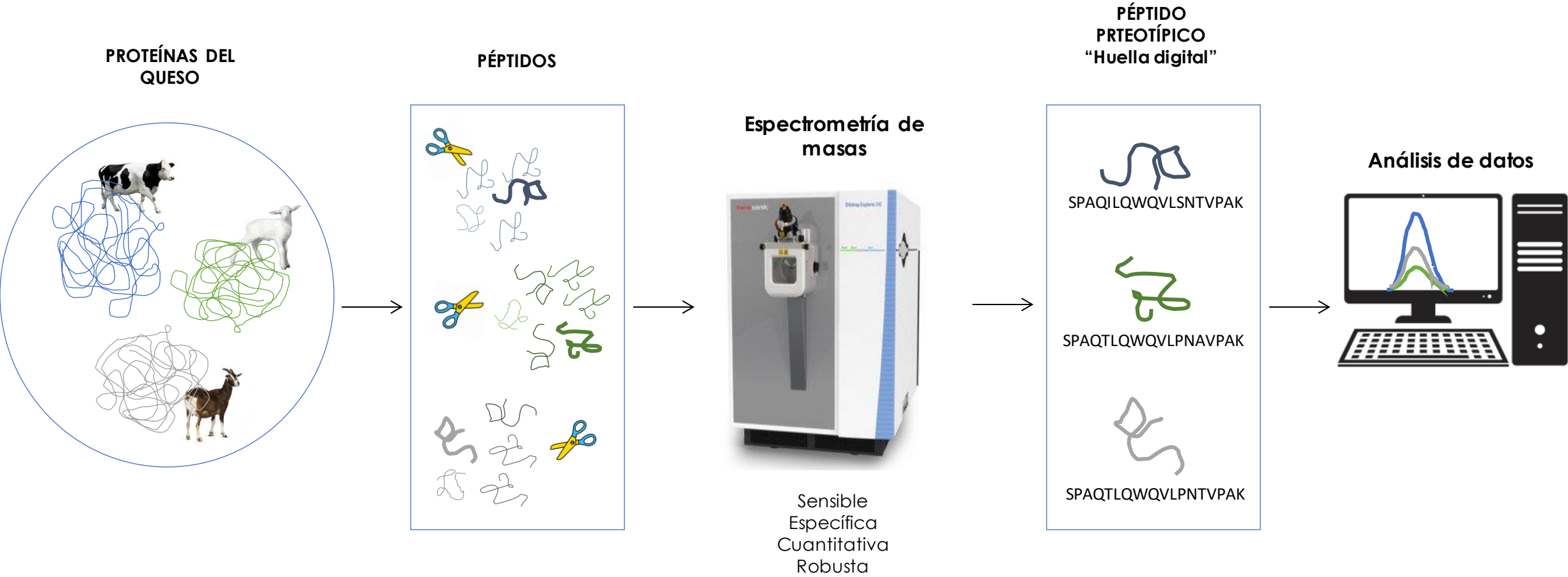
Para la estandarización de un método de cuantificación es esencial disponer de patrones de queso. Éstos deben estar basados en parámetros objetivos de composición de la leche.

Estrategia de cuantificación

Es fundamental una correcta selección de los patrones y controles internos en cada etapa del procedimiento analítico. Diseño de algoritmos para la transformación en términos de porcentaje de mezcla.

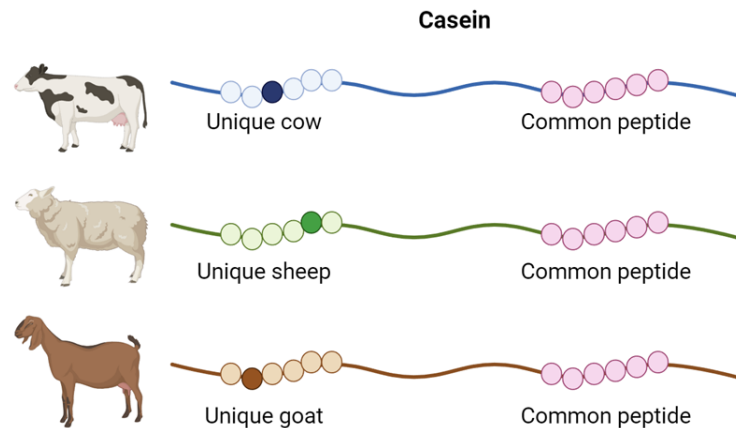
PRINCIPIO DE LA TÉCNICA

Qué es un método de proteómica dirigida (PRM)



Determinación de los péptidos proteotípicos

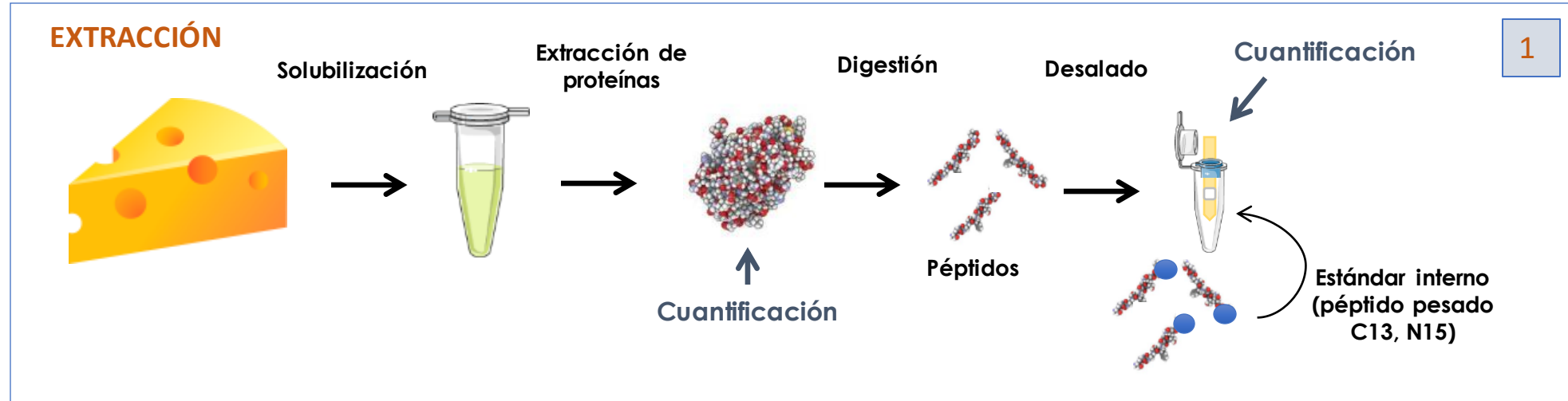
LECHE	Nº PROTEÍNAS	Nº PÉPTIDOS
Cabra	216	1611
Oveja	164	1162
Vaca	207	1769
QUESO	Nº PROTEÍNAS	Nº PÉPTIDOS
Cabra	115	521
Oveja	89	413
Vaca	89	459



Las proteínas de la leche de vaca, cabra y oveja presentan una elevada homología pero hay secuencias específicas de especie (péptidos proteotípicos).

- El análisis bioinformático identificó una lista inicial de 61 péptidos específicos de especie.
- Durante la optimización del método se trabajó con 9 péptidos específicos de 3 proteínas diferentes y 3 péptidos comunes.
- El método definitivo está basado en 1 péptido por especie de la caseína y 1 péptido común de esta misma proteína.

Desarrollo del método de cuantificación en quesos



LC-MS: CUANTIFICACIÓN



INTERPRETACIÓN Y RESULTADOS



Producción de quesos patrón



Fabricación de 3 quesos de mezcla ternaria y 3 quesos puros

- 10% Oveja; 10% Cabra; 80% Vaca
- 20% Oveja; 20% Cabra; 60% Vaca
- 30% Oveja; 30% Cabra; 40% Vaca
- 100% Vaca
- 100% Cabra
- 100% Oveja



Maduración de cada tipo de queso en 3 periodos:

- 1 mes
- 3 meses
- 6 meses

Creación de un banco de quesos patrón

Validación del método



El estudio de validación se ha realizado de acuerdo a las recomendaciones de las guías de la AOAC INTERNACIONAL, Apéndice F (2016) y Apéndice K (2019).

Los quesos patrón del proyecto se han empleado como material de referencia (RM) en los ensayos realizados.

Los parámetros evaluados fueron:

- Rango de trabajo y linealidad
- Especificidad
- Límite de detección y límite de cuantificación
- Repetibilidad y reproducibilidad
- Exactitud
- Aplicabilidad

Conclusiones:



- Se ha desarrollado un método de proteómica dirigida para el análisis cuantitativo de mezclas de leche en queso aplicable por los laboratorios de análisis.
- El método está basado en la cuantificación de 3 péptidos específicos de la caseína de cada especie y 1 péptido común de esta misma proteína.
- El método se ha validado de acuerdo a las guías de la AOAC INTERNACIONAL demostrando especificidad, linealidad y una elevada exactitud y reproducibilidad.
- El método es robusto y puede ser aplicado al análisis de diferentes tipos de queso con diferentes periodos de maduración.

Muchas gracias!