

TESIS DOCTORALES

Caracterización de marcadores peptídicos específicos para la identificación de especies de langostinos de interés comercial

Realizada por Ignacio Ortea García en el grupo de Química de Productos Marinos del Instituto de Investigaciones Marinas (IIM-CSIC), bajo la dirección del Profesor de Investigación José Manuel Gallardo (IIM-CSIC) y los doctores Benito Cañas (Universidad Complutense de Madrid) y Pilar Calo-Mata (Universidad de Santiago de Compostela).

La defensa de la Tesis tuvo lugar el 20 de noviembre de 2009, en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela.

La Tesis completa se puede consultar en la dirección:

<https://www.educacion.es/teseo/imprimirFicheroTesis.do?fichero=11639>

1. Resumen

La autenticidad alimentaria tiene en la actualidad gran relevancia en el sector pesquero, debido a la sustitución, inadvertida o malintencionada, de unas especies por otras de menor calidad. Además, la correcta identificación de los ingredientes de un producto es importante no sólo por razones económicas, sino también por razones sanitarias, debido a la introducción de algún componente alergénico o tóxico para algún sector de la población. Por todo ello, es necesario disponer de metodologías adecuadas para identificar los componentes de los alimentos. Dentro del mercado internacional de productos pesqueros, los langostinos y gambas, crustáceos del orden Decapoda, son el producto más importante en valor económico (aproximadamente el 18% del total). Las características morfológicas son complicadas de utilizar en la diferenciación de especies de decápodos, debido a su similitud fenotípica y a que en su procesado se elimina generalmente el caparazón externo. Por ello, se necesitan herramientas analíticas fiables y rápidas para distinguir entre estas especies. Las metodologías utilizadas en la autenticación de productos de la pesca han estado basadas en técnicas electroforéticas, cromatográficas, e inmunológicas, y más recientemente en análisis genéticos, utilizando técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y los

polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (RFLPs).

El trabajo realizado propone la utilización de técnicas proteómicas para la identificación y autenticación de especies de langostinos de interés comercial, siendo el objetivo principal la descripción de metodologías que nos permitan distinguir entre estas especies.

Como primer resultado se describió una metodología que nos permite distinguir entre 14 especies de langostinos, camarones y gambas de interés comercial, utilizando isoelectroenfoque [1]. Las proteínas que nos permiten diferenciar entre estas especies utilizando esta metodología fueron identificadas como distintas formas de la Sarcoplasmic Calcium-binding Protein (SCP). Por otra parte, mediante electroforesis bidimensional se encontró variabilidad inter-específica en la movilidad electroforética de otra proteína, la arginina quinasa (AK), que se seleccionó para el posterior análisis por espectrometría de masas. A partir de los espectros de huella peptídica de la AK de las siete especies más comerciales, obtenidos por MALDI-TOF, se desarrolló una metodología para su comparación matemática, obteniendo un dendrograma con utilidad tanto para identificar las especies como para estudios taxonómicos y filogenéticos [2]. Por otra parte, los picos especie-específicos o diferenciadores de las

huellas peptídicas se caracterizaron por medio de espectrometría de masas de tipo ESI-IT acoplada a HPLC, o bien directamente por nanoESI-IT. Así se obtuvo la secuencia de varios péptidos diferenciadores [3]. Estos péptidos caracterizados nos permiten distinguir entre las siete especies. Una vez caracterizados estos péptidos, se desarrolló una metodología sencilla y rápida que, acelerando la digestión proteica mediante ultrasonidos focalizados de alta intensidad, y utilizando un espectrómetro de masas en modo Selected MS/MS Ion Monitoring (SMIM) para la detección y monitorización de los péptidos, logra la identificación de la especie presente en una muestra en 90 minutos [4]. Dicha metodología mejora la rapidez en el diagnóstico y la sencillez del análisis respecto a cualquier otro método descrito, ya sea genético o electroforético. El aumento de la población alérgica al marisco, confiere a los estudios sobre la SCP y la AK, debido al carácter alergénico de ambas proteínas, un interés biosanitario adicional.

Bibliografía:

- [1] Ortea, I., Cañas, B., Calo-Mata, P., Barros-Velázquez, J., Gallardo, J.M. Identification of commercial prawn and shrimp species of food interest by native isoelectric focusing. *Food Chemistry* 2010; 121:569-74.
- [2] Ortea, I., Cañas, B., Calo-Mata, P., Barros-Velázquez, J., Gallardo, J.M.. Arginine kinase peptide mass fingerprinting as a proteomic approach for species identification and taxonomic analysis of commercially-relevant shrimp species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009; 57:5665-72.
- [3] Ortea, I., Cañas, B., Gallardo, J.M. Mass Spectrometry characterization of species-specific peptides from arginine kinase for the identification of commercially relevant shrimp species. *Journal of Proteome Research* 2009; 8:5356-62.

- [4] Ortea, I., Gallardo, J.M., Medina, I., Barros, L. Procedimiento y kit para la identificación de las principales especies comerciales de langostinos y camarones. Patente de invención (nº P200930424), Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2009.

2. Reseña del Grupo de Investigación

IPs: Dr. José Manuel Gallardo, Dr. Santiago Aubourg y Dra. Isabel Medina.

Química de Productos Marinos, departamento de Tecnología de Alimentos del Instituto de Investigaciones Marinas (Vigo) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Se ha consolidado como grupo dedicado principalmente al estudio de diferentes problemas directamente relacionados con el pescado como alimento (calidad, funcionalidad, transformación y conservación, uso integral de las capturas, identificación de especies), participando en numerosos proyectos nacionales e internacionales dentro de este campo, así como en contratos suscritos con empresas del sector. Es uno de los grupos pioneros en la aplicación de las técnicas proteómicas al área de tecnología de alimentos de origen marino, destacando entre sus logros el desarrollo de metodologías para la autenticación de distintas especies de peces, además de decápodos.

En la actualidad, las líneas principales del grupo son: métodos de evaluación de la calidad de los productos pesqueros; aplicación de antioxidantes para prevenir la oxidación de la fracción lipídica de los productos pesqueros; nuevos procesos tecnológicos de conservación de productos marinos; y autenticación de alimentos de origen marino. Una especial significación tienen los proyectos actuales del grupo enfocados hacia el estudio de los efectos saludables de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 de origen marino, EPA, DPA y DHA, sobre el estrés oxidativo, diabetes y enfermedades cardiovasculares.