

## ANEXO

**Tabla Suplementaria.** Caracterización de las muestras simples extraídas mediante el método CTAB.  
 Leyenda: ■ Pureza óptima; ■ Contaminación con ARN. ■ Contaminación con proteínas o compuestos aromáticos.

<b>MUESTRAS SIMPLES</b>	<b>[ng/μL]</b>	<b>A260/A280</b>	<b>Pureza ADN</b>	<b>Tipo de procesado</b>
<b>Tomate</b>	80 ± 2	2,090 ± 0,014		Ninguno
<b>Harina de maíz</b>	961 ± 106	2,014 ± 0,010		Molienda o trituración
<b>Harina de trigo</b>	70 ± 20	2,47 ± 0,06		Molienda o trituración
<b>Cereales rellenos de leche</b>	106 ± 20	2,030 ± 0,014		Extrusión en caliente
<b>Rosquilletas</b>	404 ± 258	1,47 ± 0,06		Fermentación alcohólica + tratamiento térmico
<b>Albóndiga vacuno / cerdo</b>	690,8 ± 321	0,94 ± 0,04		Triturado
<b>Galleta de soja</b>	1511 ± 6	1,98 ± 0,04		Fermentación alcohólica + tratamiento térmico
<b>Maíz</b>	132 ± 3	1,83 ± 0,08		Ninguno
<b>Papilla multifrutas</b>	76 ± 1	1,410 ± 0,014		Triturado + tratamiento térmico
<b>Galletas de muesli</b>	366 ± 106	1,78 ± 0,06		Fermentación alcohólica + tratamiento térmico
<b>Pez</b>	638 ± 2	2,08 ± 0,03		Ninguno
<b>Maíz Bt</b>	341 ± 7	2,09 ± 0,02		Ninguno
<b>Nocilla</b>	231 ± 4	1,155 ± 0,007		Trituración
<b>Galleta de chocolate</b>	320 ± 6	1,856 ± 0,007		Fermentación alcohólica + tratamiento térmico
<b>Avena</b>	720 ± 324	1,53 ± 0,04		Ninguno
<b>Trigo</b>	342 ± 18	1,98 ± 0,02		Ninguno
<b>Sopa</b>	959 ± 2	1,885 ± 0,007		Cocción
<b>Pienso</b>	237 ± 1	1,770 ± 0,014		Extrusión en caliente
<b>Papilla de cereales</b>	73 ± 1	1,58 ± 0,02		Triturado + tratamiento térmico
<b>Galleta de mantequilla</b>	256 ± 1	1,915 ± 0,007		Fermentación alcohólica + tratamiento térmico
<b>Quinoa</b>	327 ± 425	1,72 ± 0,13		Ninguno
<b>Arroz</b>	122 ± 39	2,18 ± 0,09		Ninguno
<b>Longaniza pollo</b>	425 ± 87	2,080 ± 0,014		Extrusión en frío
<b>Soja texturizada</b>	351 ± 196	1,72 ± 0,04		Extrusión en caliente
<b>Cebolla</b>	119 ± 10	2,220 ± 0,014		Ninguno
<b>Cerdo</b>	379 ± 103	1,94 ± 0,05		Ninguno
<b>Tenera</b>	134 ± 34	1,865 ± 0,007		Ninguno

Marta Villamayor<sup>a</sup>, Ana Lázaro<sup>b</sup>, Luis A. Tortajada-Genaro<sup>a,b,c</sup>, Ángel Maquieira<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup> Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, E46022, Valencia, Spain

<sup>b</sup> Instituto Interuniversitario de Investigación de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM), Universitat Politècnica de València-Universitat de València, Camino de Vera s/n, E46022 Valencia, Spain

<sup>c</sup> Departamento de Química, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, E46022 Valencia, Spain.

E-mail: marville@etsiann.upv.es

## INTRODUCCIÓN

Según el Real Decreto 474/2014, es lícito incluir en los derivados cárnicos ingredientes facultativos, como harinas de cereales que contengan potencialmente gluten. Dado que en ciertos individuos desencadenaría en una enfermedad celíaca o una respuesta alérgica, es recomendable identificar este componente, para proteger a los consumidores. El objetivo del trabajo es el estudio de un método competitivo y adaptado a las necesidades de la industria alimentaria.



## EXTRACCIÓN DEL ADN

Muestras alimentarias de distinta composición y procesado.

**Tabla 1.** Pureza ADN muestras extraídas mediante el método CTAB. Leyenda:  A260/280 entre 1,7-2,0 → Pureza óptima;  A260/280 superior a 2,1 → Contaminación con ARN;  A260/280 inferior a 1,6 → Contaminación con proteínas o compuestos aromáticos

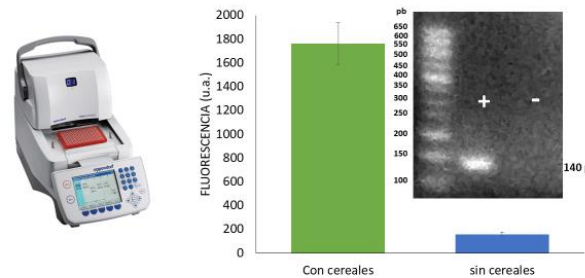
MUESTRAS	PUREZA ADN	TIPO DE PROCESADO
Tomate		Ninguno
Harina de maíz		Molienda o trituración
Harina de trigo		Molienda o trituración
Cereales millesimos		Extrusión en caliente
Rosquilletas		Fermentación alcohólica + tratamiento térmico
Galleta de soja		Fermentación alcohólica + tratamiento térmico
Maíz		Ninguno
Papilla multicereales		Triturado + tratamiento térmico
Galletas de muesli		Fermentación alcohólica + tratamiento térmico
Pez		Ninguno
Champiñón		Ninguno
Trigo		Ninguno
Sopa		Cocción
Pleno		Extrusión en caliente
Cerdo		Ninguno
Quinoa		Ninguno
Longaniza pollo		Extrusión en frío
Soja texturizada		Extrusión en caliente

## AMPLIFICACIÓN REGIÓN DE INTERÉS

Análito: gen trnL

Técnica de amplificación: PCR

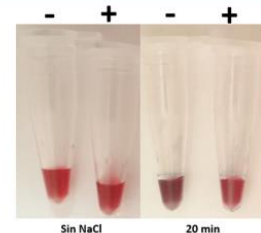
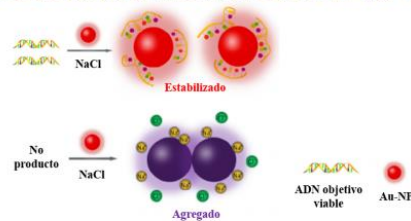
Confirmación: Fluorescencia (agente intercalante SYBR Green) y electroforesis en gel (fluoróforo Realsafe).



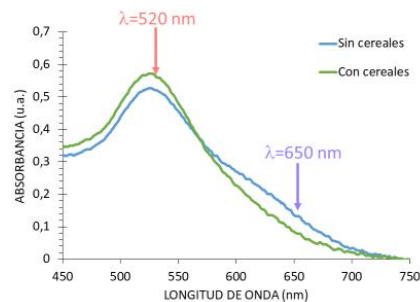
**Figura 1.** Señal registrada en fluorescencia e imagen del gel del producto de amplificación para muestras de cereales y alimentos sin cereales.

## DETECCIÓN COLORIMÉTRICA MEDIANTE Au-NPs

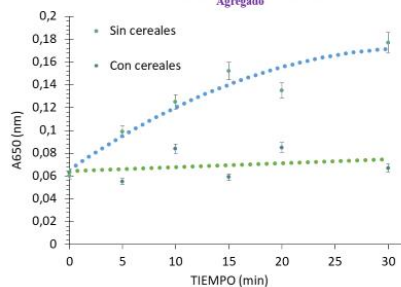
Sensado: En ausencia del gen diana, se produce la agregación de las nanopartículas de oro (10 nm), provocando un cambio de color de rojo a azul-púrpura en la disolución coloidal.



**Figura 4.** Fotografías de muestras iniciales y tras la adición de NaCl. Izquierda: Sin cereales. Derecha: Con cereales.



**Figura 2.** Espectro absorción 20 min después adición NaCl.



**Figura 3.** Efecto del tiempo de incubación de las nanopartículas en la absorción a  $\lambda=650$  nm.

**Tabla 2.** Resultados obtenidos para los alimentos estudiados.

MUESTRAS	Color observado	Presencia cereales
Tomate		-
Harina de trigo		+
Galleta de soja		+
Cerdo		-
Sopa		+
Longaniza pollo		-
Soja texturizada		-

## CONCLUSIONES

- Amplificación específica del gen trnL en las muestras que contienen cereales.
- Clasificación de las muestras basada en el biosensado colorimétrico directo.
- Obtención de una alternativa a los métodos convencionales, con mejores prestaciones con respecto a la duración del ensayo, la portabilidad y el costo del análisis.



## ACKNOWLEDGMENTS

Financial support from E.U. FEDER, BIOHOLOG (MINECO CTQ2016-75749-R) and MINECO. CDTI, programa estratégico CIEN., 2017. Proyecto Tolera.

Póster semifinalista en el XIII International Workshop on Sensors and Molecular Recognition (IWOSMOR).