**Desarrollo de metodología para la detección de carne equina mediante qPCR**

Guidi S (1, 2, 3), Diaz G (1, 2, 4), Nanni M (5), Ambrosi V (1, 2, 3, 4)

 (1) Instituto Tecnología de Alimentos (ITA), Centro de Investigación de Agroindustria (CIA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), De los reseros y de las Cabañas s/n, Hurlingham, Bs. As., Argentina

(2) Instituto de Ciencia y Tecnología de Sistemas Alimentarios Sustentables (ICyTESAS, Unidad Ejecutora de doble dependencia INTA-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET), De los reseros y de las Cabañas s/n, Hurlingham, Bs.As., Argentina.

(3) Escuela Superior de Ingeniería, Informática y Ciencias Agroalimentarias (ESIICA), Universidad de Morón (UM),Cabildo 134, Morón, Bs.As., Argentina.

(4) Cátedra de Bromatología, Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFyB), Universidad de Buenos Aires (UBA), Junín 954, CABA, Bs.As., Argentina.

(5) CIA, INTA, De los Reseros y de las Cabañas s/n, Hurlingham, Bs.As. Argentina

guidi.silvina@inta.gob.ar

La carne es una de las principales fuentes de nutrientes en la alimentación humana, por su aporte de proteína de alto valor biológico y por sus características organolépticas. En los últimos años ha aumentado el interés de los consumidores por fuentes alternativas de carne diferentes a la bovina, porcina y aviar. Argentina se encuentra entre los principales países exportadores de carne equina a nivel mundial. Aunque la misma resulta de interés por su composición, no se encuentra descripta en el Código Alimentario Argentino, por lo que su comercialización para consumo humano en el territorio nacional, no está permitida. La presencia no declarada de carne equina en productos cárnicos, es considerado como adulteración. Por lo tanto, la detección de adulterantes, particularmente en productos cárnicos resulta importante, no solo por razones legales, sino también por razones de seguridad, religiosas, preferencias del consumidor, entre otras. El objetivo de este trabajo, fue el desarrollo de una metodología confiable por Real Time PCR (qPCR) para detectar y cuantificar ADN equino en el análisis de alimentos cárnicos. Para tal fin, se realizó el diseño del par de primers para la amplificación de ADN de la región conservada del gen mitocondrial del Citocromo oxidasa (COI) de *Equus caballus*, a través del análisis *in silico* de diferentes softwares (GenBank, BlastN, PrimerExpress, Primer Map y NetPrimer). La extracción de ADN se realizó por triplicado, utilizando resina grado molecular (BioRad), partiendo de una masa inicial de 25 mg de carne equina. Los extractos de ADN fueron cuantificados utilizando Qiubit 2.0 (Thermofisher). El rango dinámico y las amplificaciones, fueron realizadas por triplicado, utilizando SsoFastTM EvaGreen®Supermix (BioRad), en un equipo Step One Plus (ThermoFisher Inc.). La eficiencia de la amplificación (rango dinámico) fue del 94,2% con un R2 de 0.996, y una pendiente de -3,19. A partir del rango dinámico se definió el LOD como la mínima cantidad de ADN detectada por qPCR para el par de primers diseñados. El límite de detección (LOD) fue de 1 ng ADN/kg carne; mientras que límite de cuantificación (LOQ) fue de 10 ng ADN/kg carne. Para comprobar la especificidad de los primers diseñados, se realizó una qPCR con muestras de ADN extraídas de otras especies (porcina, bovina y aviar), en cuyos casos no se obtuvo amplificación. Por otra parte, para evaluar el método desarrollado, se realizó la extracción de ADN de una muestra comercial de charqui equino y se la evaluó mediante qPCR. La curva de desnaturalización obtenida resultó análoga a la de la muestra control (ADN equino), cuya temperatura de desnaturalización (Tm) fue de 80,1 ºC. La metodología presentada en este trabajo ha demostrado ser simple, específica, sensible y sobre todo rápida para la identificación de la especie analizada; mostrando su potencial utilización en laboratorios de análisis como herramienta de control en posibles adulteraciones.

Palabras Clave: polimerasa, ADN, caballo, adulteraciones, genuinidad