

CONTRIBUCIÓN A LA SUSTENTABILIDAD E INOCUIDAD EN LA CADENA AGRÍCOLA-GANADERA: DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS MEDIANTE TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS MODERNAS

Souza, Rodrigo¹, Fernández Paula¹, Muela, Agustina¹, Cesio, María Verónica^{1,2,3}, Heinzen, Horacio^{1,2} Pareja, Lucia^{1,3}.

¹Grupo de Análisis de Compuestos Traza, Departamento de Química del Litoral, CenUR Litoral Norte, Udelar.

²Grupo de Análisis de Compuestos Traza, Cátedra de Farmacognosia y Productos Naturales, DQO. FQ, Udelar.

³Polo de Desarrollo Universitario, Abordaje Holístico, Udelar. lpareja@cup.edu.uy.

RESUMEN

Uruguay es uno de los cuatro principales productores de carne en América Latina. Para aumentar la productividad, el uso de medicamentos veterinarios es una práctica muy extendida. Las raciones que se emplean para alimentar los animales pueden además estar contaminadas por pesticidas de origen agrícola. Estos productos son nocivos para la salud y el ambiente por lo que se han adoptado estrictas regulaciones que limitan su uso y su concentración en bienes de consumo humano y animal. Como contribución a la sustentabilidad de esta cadena, prioritaria en el país, se plantea entonces el desarrollo y validación de metodologías analíticas para la detección simultánea de pesticidas y drogas veterinarias en distintas matrices de origen animal; músculo, hígado, riñón y leche. Dichas metodologías se aplicarán luego a muestras de origen comercial con el fin de contribuir al aseguramiento de la calidad e inocuidad de los productos cárnicos uruguayos.

SUMMARY

Uruguay is one of the four main meat producers in Latin America. To increase productivity, the use of veterinary drugs is a widespread practice. Furthermore, the feed used for cattle rising can also be contaminated by pesticides of agricultural origin. These products are harmful to human health and the environment; therefore strict regulations have been adopted to limit their use and concentration in human and animal goods. In this sense, the development of analytical methods for the

simultaneous determination of these compounds in a cheap and easy way is crucial. The aim of this work was to develop and validate methodologies for the determination of these contaminants in muscle, liver, kidney and milk. These methodologies will be applied to samples of commercial origin in order to contribute to the assurance of the quality and safety of Uruguayan meat products.

INTRODUCCIÓN

Nuestro país produce cerca de 527.000 toneladas de carne vacuna al año, 205.000 para el consumo interno y 323.000 para exportación, además las tendencias marcan un aumento de la producción con una proyección para 2023 de llegar a las 621.000 toneladas, situación que lo convierte en uno de los principales productores del mundo [1].

A nivel internacional existen una serie de normativas para el control de residuos de pesticidas en alimentos. La UE establece "límites máximos de residuos" (LMRs), del orden de las partes por billón en productos de la cadena agrícola-ganadera y el *Codex Alimentarius* establece LMRs para pesticidas en productos cárnicos y ración para animales que van desde 10 µg/Kg hasta 500000 µg/Kg dependiendo del tipo de producto y del pesticida [2-5].

Con respecto a las drogas veterinarias, tanto la UE como el *Codex*, regulan también su uso y establecen sus LMRs [5,6].

Estas regulaciones tienen como principal objetivo proteger la salud de los consumidores, asegurando la seguridad y la inocuidad de

los alimentos

En función de lo mencionado anteriormente, nuestro grupo de trabajo se planteó el desarrollo de metodologías analíticas multi-residuo y miniaturizadas en 4 matrices de productos bovinos (músculo, hígado, riñón y leche), para la detección simultánea de pesticidas aplicados en la agricultura y productos veterinarios, según los usos reales en nuestro país, como ser monensina, doramectina, ivermectina, y otros como el closantel que actualmente se encuentra prohibido en otros países pero que continúa utilizándose en Uruguay.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las principales metodologías para el análisis de estos contaminantes evaluadas fueron variaciones, según las diferentes combinaciones matriz-contaminante en estudio, de las metodologías Acetato de etilo desarrollada por Mol et. al. y el método QuEChERS desarrollado por Anastassiades et. al. [7,8].

La metodología desarrollada para la matriz leche consistió en una extracción con Acetonitrilo/Agua (2:1) con buffer citrato, una etapa de purificación mediante un freeze out de 24 hs y una extracción en fase sólida dispersiva con C-18 y $MgSO_4$.

En hígado, músculo y riñón, se realizó una extracción con Acetato de Etilo (Acetato de Etilo/Agua (3:1) en músculo), una etapa de purificación mediante un freeze out de 24 hs y una extracción en fase sólida dispersiva con C-18, $MgSO_4$ y Al_2O_3 .

Todos los contaminantes fueron determinados, utilizando cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem HPLC-MS/MS, y cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas GC-MS, de acuerdo a las características fisicoquímicas de cada compuesto.

Para la validación de las metodologías desarrolladas se tomó como referencia la guía SANTE/11945/2015 [9] la cual establece la determinación de la veracidad a partir del porcentaje de recuperación, la precisión, mediante la evaluación de la desviación estándar relativa, la linealidad, los límites de detección y cuantificación. También se

debe estudiar el efecto matriz en cada determinación. La veracidad, precisión y límites fueron evaluados mediante la fortificación de las diferentes matrices con los compuestos de interés a 2, 10, 20 y 200 $\mu g/Kg$. Se realizaron 5 réplicas genuinas para cada nivel evaluado. La linealidad fue evaluada mediante el análisis de los residuales de una curva de calibración, realizada con extracto de matriz blanco, en el rango 1-500 $\mu g/Kg$, y el efecto matriz mediante la comparación de las pendientes de esta curva con una curva realizada en solvente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inicialmente se realizó el ajuste de las condiciones cromatográficas. A pesar de que se consiguió un buen ajuste para la mayoría de los compuestos, los antibióticos del tipo aminoglicosidos no pudieron ser optimizados. Otros compuestos como los piretroides y las tetraciclinas presentaron problemas de sensibilidad, presentando un nivel de detección mayor al promedio, pero alcanzando el nivel de veracidad y precisión requerido por las normativas internacionales.

Finalmente se optimizaron 56 pesticidas y 24 drogas veterinarias para ser analizadas mediante LC-MS/MS y GC-MS.

Una vez optimizado el método de detección instrumental, para todas las matrices se evaluaron distintas metodologías de análisis. Finalmente fueron seleccionadas las metodologías descritas en materiales y métodos.

Para leche se validó la metodología para el 90% de los compuestos seleccionados, mientras que en hígado, músculo y riñón se alcanzaron valores de 80, 85 y 84% respectivamente.

Las tetraciclinas presentaron dificultades para ser validadas, algunos autores explican que esta familia de compuestos necesita una metodología particular para su análisis [10].

CONCLUSIONES

Se desarrollaron y validaron metodologías para el análisis simultáneo de pesticidas y drogas veterinarias en leche, riñón, músculo e hígado utilizando LC-MS/MS y GC-MS. A su vez, se continúa trabajando para incorporar nuevos compuestos en el alcance de dichos métodos.

Las metodologías desarrolladas son una herramienta útil para las empresas de producción para el monitoreo de muestras comerciales y también son un excelente sistema para poder evaluar la cadena cárnica en su conjunto.

Se espera, de esta forma contar con metodologías novedosas, en un área de investigación en pleno crecimiento en el país, para contribuir al mejoramiento de la calidad de la producción nacional, otorgándole un valor agregado a los productos de exportación: la seguridad e inocuidad alimentaria para su comercialización, permitiendo al país posicionarse en pie de igualdad a la hora de definir precios y condiciones.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- OCDe-FAO. (2014). Agricultural Outlook: 2014-2023.
- <http://www.vmd.defra.gov.uk/codex/index.php>
- European Commission, Regulation (EC) No.299/2008 of the European Parliament and of the Council of 11 March 2008 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of Plant and animal origin, Off. J. Eur. Commun. L9 (2008).
- European Commission, Regulation (EC) No1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009, concerning the placing of plant protection products on the market, Off. J. Eur. Commun. L 309 (2009) 2.
- www.codexalimentarius.net/web/index_es.jsp.
- Reglamento (UE) No 37/2010 de la comisión de 22 de diciembre de 2009 relativo a las sustancias farmacológicamente activas y su clasificación por lo que se refiere a los límites máximos de residuos en los productos alimenticios de origen animal. L 15/1, 20/1/2010.
- H. G. J. Mol, A. Rooseboom, R. Dam, M. Roding, K. Arondeus, S. Sunarto, Anal Bioanal Chem, 389 (2007), 1715.
- M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbacher, F. J. Schenck, J. AOAC Int. 86 (2003), 412.
- EUROPEAN COMMISSION, Directorate-general for health and food safety, 2015, 42.
- Marilyn J.S., Validation of a streamlined multiclass, multiresidue method for determination of veterinary drug residues in bovine muscle by liquid chromatography–tandem mass spectrometry, Anal Bioanal Chem, Dec 2014.