

# Desarrollo y validación de una metodología para el análisis simultáneo de aflatoxina M1, pesticidas y drogas veterinarias en leche

Paula Fernández<sup>1,3</sup>, Agustina Muela<sup>1,3</sup>, Rodrigo Souza<sup>1,2</sup>, Lucía Pareja<sup>1</sup>, María Verónica Cesio<sup>1,2</sup>, Horacio Heinzen<sup>1,2</sup>

1- Grupo de Análisis de Compuestos traza, Departamento de Química del Litoral, Facultad de Química, Universidad de la República, Paysandú, Uruguay; 2- Grupo de Análisis de Compuestos traza, Farmacognosia y Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay; 3- Licenciatura en Análisis Alimentario, Universidad Tecnológica, Paysandú, Uruguay  
**paulafernandezbenitez@gmail.com**

En las últimas décadas la inocuidad de los alimentos ha cobrado gran relevancia a nivel mundial. En particular las industrias lácteas necesitan conocer y controlar detalladamente la calidad de la materia prima con la que elaboran sus productos. La diversidad de sistemas de producción en Uruguay hace necesario determinar el nivel de micotoxinas, residuos de pesticidas y drogas veterinarias tanto en las materias primas como en los productos derivados de la industria láctea. Estos contaminantes pueden ocasionar problemas en la salud y desde el punto de vista comercial, constituyen una barrera para-arancelaria en las exportaciones. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar y validar una metodología para la determinación simultánea de residuos de aflatoxina M1 (AFM1), y 65 drogas veterinarias y pesticidas en leche cruda y pasteurizada.

Inicialmente se compararon distintas variantes de los métodos QuEChERS y Acetato de Etilo, seleccionándose para validar la que mostró mejores resultados. El método consistió en una extracción con acetonitrilo/agua (ACN/H<sub>2</sub>O; 3:1) con buffer citrato, un salting-out con NaCl/MgSO<sub>4</sub>, seguido de una etapa de clean-up dispersivo en fase sólida con RP C-18 y MgSO<sub>4</sub>. Finalmente, el extracto es concentrado mediante corriente de N<sub>2</sub>, retomado en solvente apropiado y analizado mediante HPLC-MS/MS. Se evaluó veracidad, precisión, límites de detección y cuantificación, linealidad, y efecto matriz (EM) de acuerdo al documento SANTE/11945/2015.

Los porcentajes de recuperación y desviación estándar relativa fueron aceptables para AFM1 a 0,05, 0,1, y 0,5 µg/kg (% Rec. 66-88, RSD ≤ 20%). Mientras que el 90% de pesticidas y drogas veterinarias presentaron % Rec en el rango 60-130 y RSDs ≤ 20% a 2, 10, 20 y 250 µg/kg. La linealidad fue evaluada mediante inspección visual, cálculo de coeficiente de regresión lineal (r<sup>2</sup>) y análisis de residuales, tanto en curvas de calibración en matriz como en solvente, observándose un buen ajuste lineal en el rango de 0,043-0,869 µg/kg para AFM1 y entre 1 y 500 µg/kg para pesticidas y drogas veterinarias (r<sup>2</sup> ≥ 0,99 y residuales ± 20%). El límite de cuantificación para AFM1 fue 0,05 µg/kg, 2 µg/kg para 35 pesticidas y drogas veterinarias, 10 µg/kg para 14 y 20 µg/kg para el resto (correspondiendo al menor valor de concentración validado), todos a excepción del diclofenac por debajo de sus respectivos límites máximos de residuos (LMR), establecidos por la Unión Europea (UE). El EM fue significativo (> 50%) solo para Cloranfenicol.

La aplicabilidad de la metodología se evaluó mediante el análisis de muestras comerciales de leche pasteurizada, entera y descremada. No se detectó AFM1 en las muestras analizadas. Sin embargo, 6 muestras de las 20 analizadas presentaron albendazol, difenoconazol, fenbendazol y metomilo en niveles debajo de los LMR establecidos.