

## QuEChERS: ¿UNA ALTERNATIVA EFICAZ PARA EL ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS EN LECHE Y MIEL?

Sánchez, P.; Cornacchini, M.; Pappolla, P.; Casá, N.; Raco, F.; Rodríguez, A.; Gatti, P.

INTI Lácteos

alerod@inti.gob.ar

### **OBJETIVO**

El incremento en la producción de alimentos a nivel mundial sumado a legislaciones alimentarias cada vez más exigentes, hace necesario disponer de metodologías de análisis para la determinación de contaminantes en los alimentos. Estos análisis insumen tiempo, altos costos y consumen grandes cantidades de reactivos y solventes, lo cual resulta perjudicial para el medio ambiente y la salud humana.

En este contexto, el objetivo del presente trabajo es brindar una alternativa viable a esta problemática. En consecuencia, fueron desarrolladas, validadas y acreditadas ante el Organismo Argentino de Acreditación (OAA) dos variantes metodológicas para la determinación de residuos de plaguicidas en leche y miel, basadas en el método QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe), el cual permite determinar un gran número de plaguicidas en un mismo esquema de extracción de forma eficaz y económica.

### **DESCRIPCIÓN**

#### **Desarrollo de la metodología de análisis**

La metodología "QuEChERS" fue inicialmente ideada para el análisis de plaguicidas en frutas, cereales y hortalizas (Anastassiades, 2003). El Laboratorio de Cromatografía y Ensayos Especiales de INTI-Lácteos ha realizado modificaciones sobre la metodología original y desarrolló una alternativa para la determinación de pesticidas en leche fluida, leche en polvo y miel, productos con gran impacto para el consumo y la economía nacional.

La metodología modificada consta de las siguientes etapas:

- **Micro Extracción líquido-líquido:** con acetonitrilo como solvente extractivo; se emplea sulfato de magnesio para disminuir el contenido de agua presente en la muestra y cloruro de sodio para promover el fenómeno de salting-out, el cual favorece la transferencia del pesticida presente en la muestra a la fase de acetonitrilo.
- **Limpieza del extracto y concentración:** con PSA ("primary/secondary amine"), el cual se agrega para remover ácidos orgánicos y pigmentos. Se concentra mediante un evaporador rotatorio y vacío.
- **Análisis cromatográfico:** en miel fueron analizados los siguientes plaguicidas

pertenecientes a la familia de los carbamatos: Aldicarb Sulfone, Carbofuran, 3-hidroxicarbofuran y Carbaryl en el rango de 10-80 ng/g. Se utilizó para el análisis un Cromatógrafo Líquido Agilent Technologies 1260 Infinity con derivatizador post-columna Pickering y detector de Fluorescencia.

En leche se analizaron plaguicidas Organoclorados: Alpha HCH, Gamma HCH, Endo alpha, ppDDE, Dieldrin, Endo Beta en el rango de 2-15 ng/g; y Organofosforados: Sulfotep, Metil Paratión, Pirimifos Metilo, Pirimifos Etilo, Carbofenotión en el rango de 10-100 ng/g.

Para el análisis de los compuestos Organoclorados, los extractos se analizaron por cromatografía gas-líquido con detector de micro captura de electrones (GC- $\mu$ ECD), mientras que los Organofosforados se analizaron con detector de Nitrógeno-Fósforo (GC-NPD).

#### **Validación de las metodologías**

El siguiente paso consistió en la validación de las metodologías para evaluar su desempeño. Se siguieron los lineamientos generales de validación para compuestos a nivel de trazas determinados por la Guía de validación de métodos de ensayo del Organismo Argentino de Acreditación (OAA, 2008) y el Documento de validación de la guía (SANCO-2011). Los parámetros de validación evaluados fueron los siguientes: Veracidad, Repetibilidad, Precisión Intermedia, Selectividad, Linealidad, Recuperación, Rango de trabajo, Límite de detección, Límite de Cuantificación, Robustez.

Para la determinación de estos parámetros se procedió de la siguiente manera: se comprobó el rango lineal de los analitos según el detector utilizado, luego se fortificaron muestras en cinco niveles de concentración. Los mismos fueron realizados por distintos analistas en dos tandas diferentes distribuidas en un lapso de 2 semanas. Cada tanda de muestras fortificadas fue cuantificada con una curva de calibración completa inyectada junto con las muestras. En cada tanda se procesó: un blanco de reactivos, fortificados en todos los niveles de concentración y la matriz utilizada para la fortificación de las muestras. Para evaluar la robustez se utilizó el Test de (Youden-Steiner, 1975) mientras que la veracidad fue evaluada mediante un ensayo intralaboratorio donde un analista ajeno a la

validación fortificó una muestra con una cantidad conocida de cada uno de los analitos en cuestión.

### **Incertidumbre**

Luego del análisis estadístico de los resultados, a partir de los datos obtenidos de veracidad y precisión se estimó la Incertidumbre asociada a la metodología. Para ello se siguieron los lineamientos del documento Nordtest para el cálculo de la Incertidumbre (Magnusson y colab., 2004).

### **RESULTADOS**

Siguiendo los criterios de aceptación de la Disposición referida a los parámetros de validación (SENASA 2006), se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 1: Criterios de aceptación

Parámetro	Criterio de aceptación	Resultado
Repetibilidad	CV % ≤ 18 %	Cumple
Precisión Intermedia	CV % ≤ 20 %	Cumple
Linealidad	R <sup>2</sup> > 0,995	Cumple
Veracidad	Recuperación entre 70% - 110%	Cumple
Robustez	Cumplimiento con las especificaciones del Test de Youden - Steiner	Cumple

Tabla 2: Límites de Detección (LD), límites de cuantificación (LC) e Incertidumbre asociada (U) para ambas matrices.

Compuesto	LD (ng/g)	LC (ng/g)	U relativa expandida (k=2) <sup>(*)</sup>
Aldicarb sulfone	0,2	0,7	0,34
3-hidroxycarbofuran	0,3	0,9	0,31
Carbofuran	0,3	0,9	0,27
Carbaryl	0,3	1,1	0,36
Alpha HCH	0,6	2,5	0,37
Gamma HCH	0,7	2,6	0,45
Endo alpha	0,2	1,1	0,44
ppDDE	0,1	0,6	0,45
Dieldrin	0,2	0,5	0,39
Endo Beta	0,3	1,1	0,50
Sulfotep	1,9	10	0,37
Metil Paratión	5,3	10	0,39
Pirimifos Metilo	4	10	0,30
Pirimifos Etilo	4,4	10	0,40
Carbofenotión	3,2	10	0,32

(\*) Valor de la incertidumbre expandida obtenida por multiplicación de la incertidumbre combinada, por un factor k=2, suponiendo distribución normal, para un intervalo de confianza del 95%.



Figura 1: Viales en Inyector Automático del GC

### **CONCLUSIONES**

El cumplimiento con los parámetros de validación establecidos, junto con los bajos límites de detección y cuantificación alcanzados y los valores de Incertidumbre estimados, permiten demostrar que las metodologías estudiadas en el presente trabajo representan una alternativa viable a tener en cuenta para el análisis de residuos de plaguicidas en leche y miel.

Resulta imprescindible trabajar en el desarrollo de metodologías de análisis que permitan obtener resultados confiables en el menor tiempo posible para poder cumplir con las legislaciones nacionales e internacionales

El método QuEChERS, no solo permite disminuir el uso de solventes, reactivos y materiales comparado a los métodos tradicionales de extracción, también permite disminuir los tiempos de análisis, a la vez que ofrece resultados seguros. Estos hechos hacen que sea valorado como una alternativa segura y robusta para su utilización en matrices alimentarias complejas.

### **BIBLIOGRAFÍA**

- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Tajnbaher, D., Schenck, F. J. (2003). Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and Dispersive Solid-Phase Extraction for determination of Pesticide Residue in Produce. *Journal AOAC International*, vol 86(22), pp 412-431.
- Documento SANCO N° 12495 (2011), Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Magnusson B., Naykki T., Hovind H. and Krysell M. (2004). Handbook for Calculation of Measurement of Uncertainty in environmental laboratories - 2nd Edition, Nordtest, Finland, 52 pp.
- Organismo Argentino de Acreditación (2008) Guía de validación de métodos de ensayo DC-LE-05.
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (2006) Disposición 125/2006 "Control de Residuos en Productos de Origen".
- Youden, W.J., Steiner, E. H. (1975) Statistical manual of the Association of Official Analytical Chemists.

