

# Efecto de residuos de antibióticos en etapas de descremado y pasteurización de leche bovina entera.

ESCOBAR, Daniela\*1; PELAGGIO, Ronny1; MORENO, Sebastián1; CARDOZO, Gonzalo1; DE TORRES, Elena 3; REY, Fabiana S,1; TORRE, Alejandra2; MARTINEZ, Inés1; OLAZÁBAL, Laura2.

1 Latitud - Fundación LATU, Montevideo, Uruguay.  
2 Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU), Montevideo, Uruguay.  
3 Campo experimental Nº2, Facultad de Veterinaria, UdelaR. San José, Uruguay.  
\*descobar@latitud.org.uy



## Introducción

Los antibióticos son compuestos químicos utilizados para combatir enfermedades como la mastitis y otras enfermedades infecciosas en el ganado bovino lechero. Dentro de ellos el uso mayoritario lo presentan los beta-lactámicos (compuesto por la familia de las penicilinas y las cefalosporinas) y las tetraciclinas (Oliver et al. 2011 y USDA 2016); los macrólidos, quinolonas y sulfamidas, también son ampliamente utilizadas. Según Giannechini, 2005, en Uruguay los beta-lactámicos (penicilina, amoxicilina, cloxacilina, etc.) son el grupo de agentes antimicrobianos más utilizado, siendo recomendados como droga en primera línea, por su bajo costo, baja toxicidad y riesgo de desarrollo de resistencia antimicrobiana.

Los residuos de medicamentos veterinarios, especialmente los antimicrobianos, son considerados un peligro y potencial riesgo para la salud pública, los procesos de industrialización lechera y el medio ambiente. Es por esto que a nivel nacional e internacional, existen reglamentaciones que prohíben el procesamiento de la leche con residuos de antibióticos si se encuentran por encima del Límite Máximo de Residuo (LMR) (Decreto Nº315/994 y Codex Alimentarius, 2017). La leche con concentración de antibióticos inferiores al LMR, pueden ser procesadas para la elaboración de los distintos productos lácteos, por lo que el conocimiento del comportamiento de los residuos de antibióticos en leche frente a diferentes procesos como ser la distribución de estos entre los componentes polares y no polares de la leche que se produce en un proceso de separación como es el descremado, así como la pasteurización; podría permitir una mejor comprensión del posible destino de estos en los procesos de industrialización. El objetivo de este trabajo fue evaluar la distribución de antibióticos beta-lactámicos y tetraciclinas en leche descremada y crema, luego del proceso de descremado de leche cruda, y de la pasteurización de la leche descremada

## Materiales y Métodos

### Procesamiento leche

Se muestra en el esquema 1. Se adicionó ampicilina, penicilina G, cloxacilina, dicloxacilina, cefalexina, ceftiofur y oxitetraciclina a leche cruda bovina proveniente de tamo de Facultad de Veterinaria. Se estudiaron dos concentraciones de cada antibiótico: LMR/2 (C1) y LMR (C2) (exceptuando en ampicilina y penicilina donde C1=LMR\*3 y oxitetraciclina C1=LMR/10), según se muestra en la Tabla 1. Se separó la grasa a 38 °C con descremadora a escala piloto y se pasteurizó la leche descremada (72 °C, 15 s). Las pruebas se realizaron por triplicado y se evaluó diferencias utilizando prueba de Wilcoxon. Se mide el porcentaje de recuperación de antibióticos en leche descremada (LD), y la degradación de antibiótico que se produce en la LD luego de su pasteurización.

### Concentración de antibióticos en leche

La cuantificación de antibióticos Beta Lactámicos (Penicilina, Ampicilina, Cloxacilina, Dicloxacilina, Cefalexina, Ceftiofur) y tetraciclinas (Oxitetraciclina) en leche se realizó por HPLC-MS/MS. Se precipitaron las proteínas de la leche con Acetonitrilo y se centrifugó a 8500 g. Se determinó la concentración utilizando UPLC-MS/MS (1290 Agilent equipado con detector de masa Triple Quad LC/MS Agilent 6430), utilizando Columna Poroshell 120 EC-C18 2.1 x 100mm 2.7- Micron de Agilent Technologies.

Antibiótico	C1 (ppb)	C2 (ppb)
Cefalexina	50	100
Ceftiofur	50	100
Cloxacilina	15	30
Didoxacilina	15	30
Penicilina G	12	4
Ampicilina	12	4
Oxitetraciclina	10	100

Tabla 1. Concentraciones de antibióticos utilizadas

### Composición de leche

Se analizó materia grasa y humedad por protocolos basados en las normas (ISO 1211:2010 y 9731:2010).



## Resultados y Discusión.

### Efecto del descremado de la leche entera

Se observa en la Tabla 2 que 6 de los antibióticos estudiados presentaron mayor afinidad por la fase acuosa de la leche, permaneciendo entre el 91% y 99% de la concentración inicial de oxitetraciclina, penicilina G, dicloxacilina y ampicilina en leche descremada. De la misma manera el Ceftiofur y la Cloxacilina, con porcentajes levemente menores de 87-88% cuando se adiciona 50 ppb y 30 ppb respectivamente. Hakk et al. 2016 estudiaron la oxitetraciclina y la penicilina, encontrando una mayor distribución en la fase polar cuando utilizaron oxitetraciclina y penicilina.

La cefalexina presentó mayor afinidad por la fase grasa de la leche que los otros antibióticos estudiados, manteniendo el 47% y el 73 % de la concentración inicial en leche descremada para cuando se adiciona 50 ppb y 100 ppb respectivamente.

Tabla 2. Distribución de antibiótico en la leche descremada, representada como el % de recuperación en leche descremada, medidas en dos concentraciones de antibiótico inicial. Diferentes letras en la misma fila indica diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

Tabla 3. Porcentaje de degradación de antibiótico de la leche descremada luego del proceso de pasteurización

Antibiótico	% Recuperación en C1	% Recuperación en C2	p-valor
Ampicilina	90,8 ± 5,9 <sup>a</sup>	96,2 ± 3,6 <sup>a</sup>	0,123
Cefalexina	49,2 ± 18,9 <sup>a</sup>	72,6 ± 1,8 <sup>b</sup>	0,038
Ceftiofur	88,1 ± 7,1 <sup>a</sup>	97,5 ± 2,6 <sup>b</sup>	0,028
Cloxacilina	93,1 ± 5,0 <sup>a</sup>	86,5 ± 5,8 <sup>b</sup>	0,043
Dicloxacilina	94,4 ± 5,6 <sup>a</sup>	91,9 ± 2,1 <sup>b</sup>	0,031
Oxitetraciclina	94,1 ± 4,5 <sup>a</sup>	90,7 ± 4,4 <sup>a</sup>	0,080
Penicilina	94,8 ± 3,5 <sup>a</sup>	98,9 ± 1,6 <sup>b</sup>	0,017

Antibiótico	% de Degradación C1	% de Degradación C2	p-valor
Ampicilina	ND	ND	-
Cefalexina	ND	ND	-
Ceftiofur	ND	ND	-
Cloxacilina	5,8 ± 4,6 <sup>a</sup>	8,6 ± 7,4 <sup>a</sup>	0,729
Dicloxacilina	6,2 ± 5,2 <sup>a</sup>	2,6 ± 1,2 <sup>a</sup>	0,488
Oxitetraciclina	ND	ND	-
Penicilina	ND	ND	-

Diferentes letras en la misma fila indica diferencia significativa ( $P < 0.05$ ). ND = No degrada

### Efecto de la pasteurización de la leche descremada

Se observa en la Tabla 3 que la pasteurización a 72 °C durante 15 segundos (HTST) no causó una disminución significativa en la concentración de los antibióticos estudiados

## Referencias

Codex Alimentarius, 2017. Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in food. CAC/MRL 2-2017. Rome, Italy. Ministerio de Salud Pública, 2013. Reglamento Bromatológico Nacional. Decretos 182/013 y 359/013. Montevideo, Uruguay.  
Giannechini, R, Concha, C, Rivero, R, J, Gil y Moreno-Lopez, J. (2005). Monitoreo de la resistencia de *Staphylococcus aureus* aislados en rodeos lecheros de la cuenca lechera tradicional de Uruguay. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú 9 al 11 de junio 2005- Uruguay. pp. 205-207  
Hakk, H., Shappell ,N.W., Lupton, S.J., Shelver, W.L., Fanaselle, W., Oryang, D., Yeung, C.Y., Hoelzer, K., Ma, Y., Gaalswyk, D., Pouillot, R, Van Doren, J.M.2016.Distribution of Animal Drugs between Skim Milk and Milk Fat Fractions in Spiked Whole Milk: Understanding the Potential Impact on Commercial Milk Products. J Agric Food Chem. Jan 13:64(1)

## Conclusiones

Se aporta información para la comprensión del posible destino de los residuos de antibióticos en productos lácteos descremados y enteros. De los antibióticos estudiados la cefalexina podría presentar mayor riesgo de aparición de residuos de antibióticos en productos con alto porcentaje de grasa láctea. Las condiciones de pasteurización HTST no disminuyen la concentración de antibióticos en leche.

## Agradecimientos

La investigación que da origen a estos resultados presentados en la presente publicación recibió fondos de la Agencia Nacional de Investigación e Innovación bajo el código FSA\_I\_2017\_1\_138926"

