



**Somos calidad,  
somos USC**

**Métodos cromatográficos aplicados al análisis de residuos de antibióticos en  
productos de origen animal: una revisión**

**Autor**

**Elcy Johana Gañan Sánchez**

**Título por el que opta: Químico**

**Director**

**Ms. Sandra Patricia Castro Narváz**

**Grupo de Investigación:**

**Grupo de investigación de electroquímica y medio ambiente (GIEMA)**

**Línea de Investigación: Alimentos y Fármacos**

**Facultad de Ciencias Básicas**

**Química**

**Universidad Santiago de Cali**

**Santiago de Cali - Colombia**

**2025**

## IMPACTOS

En la tabla 1, se relacionan los diferentes tipos de impactos que presentó este trabajo de grado:

**Tabla 1.** Impactos, producto y beneficiarios del presente trabajo de grado.

IMPACTO	PRODUCTO	BENEFICIARIO(S)
<b>Económico</b>	Opciones para la optimización de los métodos de análisis, con la finalidad, de reducir tiempos y costos analíticos en los laboratorios.	Laboratorios de servicios, laboratorios de control calidad, y sectores relacionados.
<b>Responsabilidad social</b>	Resumen de métodos precisos y confiables que permiten la detección de residuos de antibióticos en alimentos de origen animal, aportando así, a la seguridad alimentaria.	Consumidores y entes reguladores de salud pública.
<b>Científico</b>	Revisión sistemática con un análisis de diferentes técnicas cromatográficas, utilizadas para la cuantificación de residuos de antibióticos en diferentes matrices de alimentos de origen animal, generando un análisis comparativo de desempeño y tendencias.	Estudiantes, profesores, investigadores y salud pública.
<b>Indicadores de Gestión</b>	Propuesta de indicadores claves de desempeño, para los programas de seguimiento y vigilancia, basándose principalmente en el límite de detección y cuantificación, la eficiencia de extracción (% de recuperación) y la reproducibilidad de los resultados (RSD).	Autoridades regulatorias, tales como, el ICA, Invima, FDA, entre otros.
<b>Tecnológico</b>	Recopilación de varios métodos que han sido validados (LC-MS/MS, UHPLC) que permiten transferencia tecnológica a laboratorios.	Centros investigativos, laboratorios de servicios, laboratorios de control calidad y universidades.
<b>Técnico</b>	Identificación de técnicas analíticas para una preparación de muestras más eficientes (QuEChERS, SPE, DLLME).	Tecnólogos químicos, Químicos, y comunidad académica.
<b>Ambiental</b>	Impulsar el uso de estos métodos analíticos, para que se emplee menor cantidad de solventes contaminantes, y promover el control de la contaminación causada por antibióticos utilizados en la industria pecuaria.	Ecosistemas acuáticos y terrestres, comunidades afectadas por la resistencia a los diferentes organismos antimicrobianos.

<b>Social</b>	Proteger la salud de las comunidades, a través de la detección oportuna, de los fármacos en alimentos y poder reducir así la exposición a los mismos.	Sociedad en general.
<b>Cultural</b>	Generar conciencia acerca del uso responsable de antibióticos en la producción animal y su control en los diferentes alimentos de origen animal.	Productores pecuarios, comunidad y ciudadanía interesada en hábitos de consumo saludables y orgánicos.

# MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS APLICADOS AL ANÁLISIS DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL: UNA REVISIÓN

Elcy Johana Gañan Sánchez<sup>1</sup> ([elcy.ganan00@usc.edu.co](mailto:elcy.ganan00@usc.edu.co)); Sandra Patricia Castro Narváez<sup>1</sup> ([sandracastro00@usc.edu.co](mailto:sandracastro00@usc.edu.co))

<sup>1</sup>Grupo de Investigación Electroquímica y Medio Ambiente, Programa de Química.  
Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Santiago de Cali. Campus Pampalinda Calle 5 # 62-00.  
Santiago de Cali, Colombia.

## RESUMEN

La presencia de diferentes residuos de antibióticos en alimentos de origen animal, representa un problema que crece cada vez más, afectando la inocuidad alimentaria y aportando significativamente al desarrollo de la resistencia antimicrobiana. En esta revisión sistemática, se analizaron varios métodos cromatográficos, aplicados a la detección y la cuantificación de residuos de antibióticos en matrices de origen animal. Para esto, se compilaron y se analizaron investigaciones publicadas que incluyeron diversas familias de antibióticos y varios tipos de matrices, tales como: leche, carne, hígado, huevos y productos acuáticos, con el fin, de identificar las tendencias metodológicas, fortalezas y las limitaciones de las técnicas empleadas.

Los análisis de estas investigaciones mostraron que los antibióticos más estudiados fueron:  $\beta$ -lactámicos, tetraciclinas, aminoglucósidos, macrólidos, sulfonamidas y quinolonas, cuyas propiedades fisicoquímicas condicionaron la preparación de muestra y la eficiencia de detección. Se evidenció que, aunque la HPLC continúa siendo la más utilizada por su bajo costo, tiene una sensibilidad limitada frente a matrices complejas. Mientras que, la UHPLC-MS/MS y la LC-MS/MS permitieron detectar cantidades más pequeñas de residuos, en el rango de  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , y se evidenciaron recuperaciones entre el 80 y 110%. Los estudios que reportaron validaciones demostraron cumplimiento general con normativas internacionales, aunque se identificaron vacíos en la evaluación de estabilidad y efectos de matriz.

Los métodos cromatográficos son importantes para garantizar la inocuidad de los alimentos y controlar la resistencia antimicrobiana, no obstante, se necesitan más protocolos armonizados y nuevas metodologías que sean rápidas, sostenibles y de bajo costo.

**Palabras clave:** *efectos de matriz; inocuidad alimentaria; resistencia antimicrobiana; técnicas instrumentales; toxicología alimentaria.*

# CHROMATOGRAPHIC METHODS APPLIED TO THE ANALYSIS OF ANTIBIOTIC RESIDUES IN ANIMAL-DERIVED PRODUCTS: A SYSTEMATIC REVIEW

## ABSTRACT

The presence of different antibiotic residues in foods of animal origin represents a growing problem, affecting food safety and significantly contributing to the development of antimicrobial resistance. In this systematic review, several chromatographic methods applied to the detection and quantification of antibiotic residues in animal-derived matrices were analyzed. For this purpose, published studies were compiled and examined, including various families of antibiotics and several types of matrices, such as milk, meat, liver, eggs, and aquatic products, with the aim of identifying methodological trends, strengths, and limitations of the techniques employed.

The analyses of these studies showed that the most frequently investigated antibiotics were  $\beta$ -lactams, tetracyclines, aminoglycosides, macrolides, sulfonamides, and quinolones, whose physicochemical properties influenced sample preparation and detection efficiency. It was found that, although HPLC remains the most widely used technique due to its low cost, it has limited sensitivity when applied to complex matrices. In contrast, UHPLC-MS/MS and LC-MS/MS allowed the detection of smaller amounts of residues, in the  $\mu\text{g}/\text{kg}$  range, with recoveries between 80 and 110%. Studies that reported validations demonstrated general compliance with international regulations, although gaps were identified in the evaluation of stability and matrix effects.

Chromatographic methods are essential to ensure food safety and to control antimicrobial resistance; however, more harmonized protocols and new methodologies that are rapid, sustainable, and cost-effective are still needed.

**Keywords:** *matrix effects; food safety; antimicrobial resistance; instrumental techniques; food toxicology.*

## HIGHLIGHTS

1. En los estudios analizados, se identificaron diferentes métodos de extracción y preparación de muestras aplicadas a matrices complejas, tales como: leche, carne, huevos y pescado. Estas metodologías mostraron variaciones en la eficiencia de recuperación, debido a las diversas propiedades fisicoquímicas de los antibióticos.
2. Se evidenció una tendencia creciente hacia el desarrollo de metodologías más sostenibles, alineadas con los principios de la química analítica verde. Este enfoque no solo busca disminuir el uso de solventes tóxicos y reducir la generación de residuos, sino que, también plantea el reto de mantener niveles adecuados de sensibilidad y reproducibilidad en los análisis cromatográficos.
3. Los resultados confirman que, las técnicas UHPLC-MS/MS y LC-MS/MS proporcionan una mayor precisión y sensibilidad, lo que las convierte en herramientas de referencia para el análisis multiresiduo de antibióticos en niveles de trazas.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los antimicrobianos son medicamentos clave para combatir infecciones. Estos incluyen antibióticos, antivirales, antifúngicos y antiparasitarios, los cuales, son utilizados para prevenir y tratar enfermedades infecciosas que afectan a los seres humanos, animales y plantas.[1]

Específicamente, los antibióticos han sido muy importantes para el tratamiento y prevención de infecciones bacterianas en humanos y animales durante casi un siglo; sin embargo, su uso excesivo e inapropiado ha acelerado e incrementado la aparición de bacterias resistentes, lo que contribuye al problema mundial de resistencia a los antimicrobianos (RAM). Esta ocurre cuando bacterias, virus, hongos o parásitos dejan de responder a los diferentes tratamientos, dificultando el control de las infecciones y aumentando el riesgo de propagación, enfermedad grave y ocasionando en algunos casos, hasta la muerte. En la producción animal, el aumento de la demanda de proteína ha llevado al uso masivo de antibióticos con fines profilácticos, terapéuticos y como promotores de crecimiento. Esta práctica incluye la aplicación de dosis subterapéuticas y sobredosis, lo que intensifica la presión selectiva y acelera el desarrollo de resistencia. [2,3]

Las sulfonamidas, tetraciclinas, penicilinas, macrólidos, quinolonas, fluoroquinolonas y aminoglucósidos, se encuentran entre las principales clases de antibióticos utilizados en la producción acuícola, bovina, porcina, avícola, cunícola y ovino-caprina, así como en la obtención de leche, huevos y miel. Su uso puede ser oral, inyectable, transfusional o tópica, lo que aumenta la posibilidad de exposición y persistencia en la cadena alimentaria. [4]

La presencia de residuos de medicamentos en carne, leche y huevos está vinculada a prácticas veterinarias inadecuadas, como el uso de medicamentos sin autorización o el incumplimiento de los periodos de retiro. Esto representa un riesgo para la salud pública tanto por sus efectos directos (reacciones alérgicas, toxicidad, potencial carcinogénico, efectos teratogénicos, alteraciones del microbiota intestinal) como indirectos, que fomentan la propagación de genes de resistencia en patógenos clínicamente relevantes. Entre los más preocupantes se encuentran *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*, responsables de más del 70 % de las muertes asociadas a RAM y presentes también en animales destinados al consumo humano. [5,6]

Según el informe GLASS del 2022, se reportan tasas medianas de resistencia preocupantes en 76 países: 42 % para *Escherichia coli* resistente a cefalosporinas de tercera generación y 35 % para *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. [7] Actualmente, las bacterias resistentes son responsables de más de 700 mil muertes anuales en el mundo, cifra que podría alcanzar 10 millones de muertes y pérdidas económicas superiores a 100 billones de dólares para 2050. [8] En Colombia, según la Encuesta de Autoevaluación Nacional TrACSS, administrada anualmente por el Grupo Cuatripartito (FAO, PNUMA, OMS, WOA), hasta 2024 no hay normativa para prevenir la contaminación del medio ambiente, ni sistema de monitoreo regular de compuestos antimicrobianos y sus residuos, en agua ni en alimentos de origen animal. [9]

Debido a los riesgos asociados a la presencia de residuos de antibióticos en los alimentos de origen animal mencionados anteriormente, es esencial contar con métodos analíticos que sean precisos y confiables para su detección y cuantificación en diversas matrices. Entre los métodos de cribado, el Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) es económico, rápido y capaz de procesar numerosas muestras; sin embargo, sus limitaciones para distinguir compuestos de la misma clase y su naturaleza semicuantitativo dificultan establecer si los valores superan los Límites Máximos de Residuos (LMR).[10] Es por ello, que se requieren técnicas confirmatorias más robustas, como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la cromatografía líquida ultrarrápida (UHPLC) [11], y la Cromatografía de Gases (CG), que, acopladas a detectores como el de arreglo de diodos (DAD), fluorescencia (FLD) o espectrometría de masas (LC-MS/MS), proporcionan alta sensibilidad, especificidad y capacidad para identificar y cuantificar simultáneamente diferentes compuestos con gran precisión.

El uso de estas técnicas en matrices como carne, [10,15,17] leche, [12,15,18] huevos, [13,14,15] pescado [15,16,19,20] y miel [21,22,23,24] es esencial para garantizar el cumplimiento de los límites máximos de residuos establecidos por normativas nacionales e internacionales, así como para contribuir al control de la resistencia antimicrobiana y a la protección de la salud pública.

En la presente revisión sistemática, se realizó un análisis de las diferentes metodologías cromatográficas empleadas en los últimos cinco años para detectar residuos de antibióticos en diferentes matrices de alimentos de origen animal, recopilando información proveniente de distintas regiones del mundo. El objetivo principal de esta revisión fue evaluar la tendencia y el desempeño de los métodos cromatográficos en la determinación de residuos antibióticos en matrices alimentarias, identificando las técnicas más empleadas en este campo. Además, se describieron las ventajas, limitaciones y parámetros analíticos relevantes de estas técnicas, así como las principales matrices alimentarias de origen animal en las que se han implementado. Por último, se analizó la relación entre los límites máximos de residuos (LMRs) establecidos por organismos internacionales y la aplicación de métodos cromatográficos para garantizar la inocuidad alimentaria.

Esta revisión generó un documento de consulta que, basado en el análisis de las metodologías empleadas en distintos países, puede orientar e incentivar el desarrollo de estrategias para el monitoreo y control de residuos de antibióticos en alimentos de origen animal en Colombia. Esta iniciativa se encuentra alineada con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), particularmente con el ODS 3: Salud y bienestar, cuya meta 3.9 busca reducir las enfermedades y muertes causadas por sustancias peligrosas, y con el ODS 12: Producción y consumo responsables, que promueve el uso racional de los recursos y la reducción de contaminantes químicos en las cadenas de producción. [25] La adopción de métodos analíticos confiables y eficaces no solo ayudaría a garantizar la inocuidad de los alimentos y prevenir la resistencia a los antibióticos, sino que, también fomentaría prácticas productivas más seguras y sostenibles en la industria alimentaria de origen animal.

## **2. METODOLOGÍA**

### **2.1. Búsqueda bibliográfica y criterios de inclusión y exclusión.**

- **Selección de la literatura:**

La consulta bibliográfica se llevó a cabo en diversas bases de datos científicas y motores de búsqueda académicos especializados proporcionados por la Universidad Santiago de Cali, incluyendo Science Direct, Scopus, Web of Science, SciFinder, SpringerLink y Wiley Online Library. Con la finalidad, de garantizar una buena búsqueda, se definieron palabras clave en español e inglés relacionadas con el tema central de la investigación, tales como: cromatografía, antibióticos, residuos de antibióticos, productos de origen animal, alimentos de origen animal, leche, carne, huevos, hígado, pescado y productos acuáticos.

Estas palabras clave se combinaron de manera sistemática mediante operadores booleanos “y” (AND) y “o” (OR), lo cual, permitió ampliar la búsqueda al incluir sinónimos y términos equivalentes. Se diseñaron varias estrategias de búsqueda, entre las cuales se destacan:

- ("chromatographic methods" OR "chromatography" OR "HPLC" OR "UHPLC" OR "LC-MS" OR "LC-MS/MS") AND ("antibiotic residues" OR "veterinary drug residues") AND ("animal origin" OR "animal-derived food" OR "animal products")
- ("métodos cromatográficos" OR "cromatografía") AND ("residuos de antibióticos" OR "residuos de fármacos veterinarios") AND ("origen animal" OR "productos de origen animal")
- ("chromatography" OR "LC-MS/MS" OR "HPLC") AND ("antibiotic detection") AND ("milk" OR "meat" OR "eggs" OR "liver" OR "fish" OR "aquatic products")

La implementación de estas combinaciones permitió abarcar tanto la literatura internacional, como trabajos en español, evitando sesgos por idioma o base de datos.

Se compilaron y analizaron artículos de investigación publicados en inglés y español, comprendidos entre enero de 2020 y 2025, los cuales, reportaron métodos experimentales completos para la determinación de residuos de antibióticos en matrices alimentarias de origen animal mediante cromatografía.

- **Criterios de inclusión y exclusión:**

Se incluyeron estudios originales que describían de manera clara el proceso analítico completo. Contemplando desde la preparación de muestra, separación cromatográfica y detección, así como aquellos que incluían parámetros de validación, tales como, recuperación, precisión, LOD/LOQ, linealidad, efecto matriz o comparaciones de rendimiento entre métodos.

También se aceptaron trabajos que aplicaron métodos ya establecidos, a matrices de origen animal como carne (bovina, aviar, porcina, pescado), leche y derivados, queso, miel y huevos, siempre que estén publicados en inglés o español, y dentro del rango temporal establecido. Se excluyeron revisiones narrativas, artículos de tipo revisión (reviews), editoriales o resúmenes de congresos sin una descripción metodológica completa, estudios que utilizaron métodos exclusivamente en matrices no alimentarias, alimentaria de origen diferente al animal, o exclusivamente en matrices ambientales, aquellos que no especificaron el procedimiento de preparación de la muestra, que no contenían los datos analíticos básicos, o duplicados. Se seleccionó siempre la versión más completa y actualizada.

- **Análisis de datos:**

Se construyó una base de datos en Microsoft Excel para registrar la siguiente información: datos bibliográficos como autor, año, país y revista; el tipo de matriz y la clase de antibiótico(s) evaluados; la técnica de preparación de muestra utilizada (por ejemplo, QuEChERS, SPE, LLE, micro extracción), junto con las condiciones y modificadores aplicados; las condiciones cromatográficas, incluyendo el tipo de columna, fase móvil, gradiente/isocrático, temperatura y flujo; el sistema de detección empleado con sus parámetros clave (longitud de onda, transición MRM, modo de ionización, etc.); los parámetros de validación tales como el rango lineal, la recuperación (%), repetibilidad (RSD%), LOD/LOQ y efecto matriz; así como las ventajas, limitaciones reportadas en cada estudio, entre otras.

- **Comparación de métodos:**

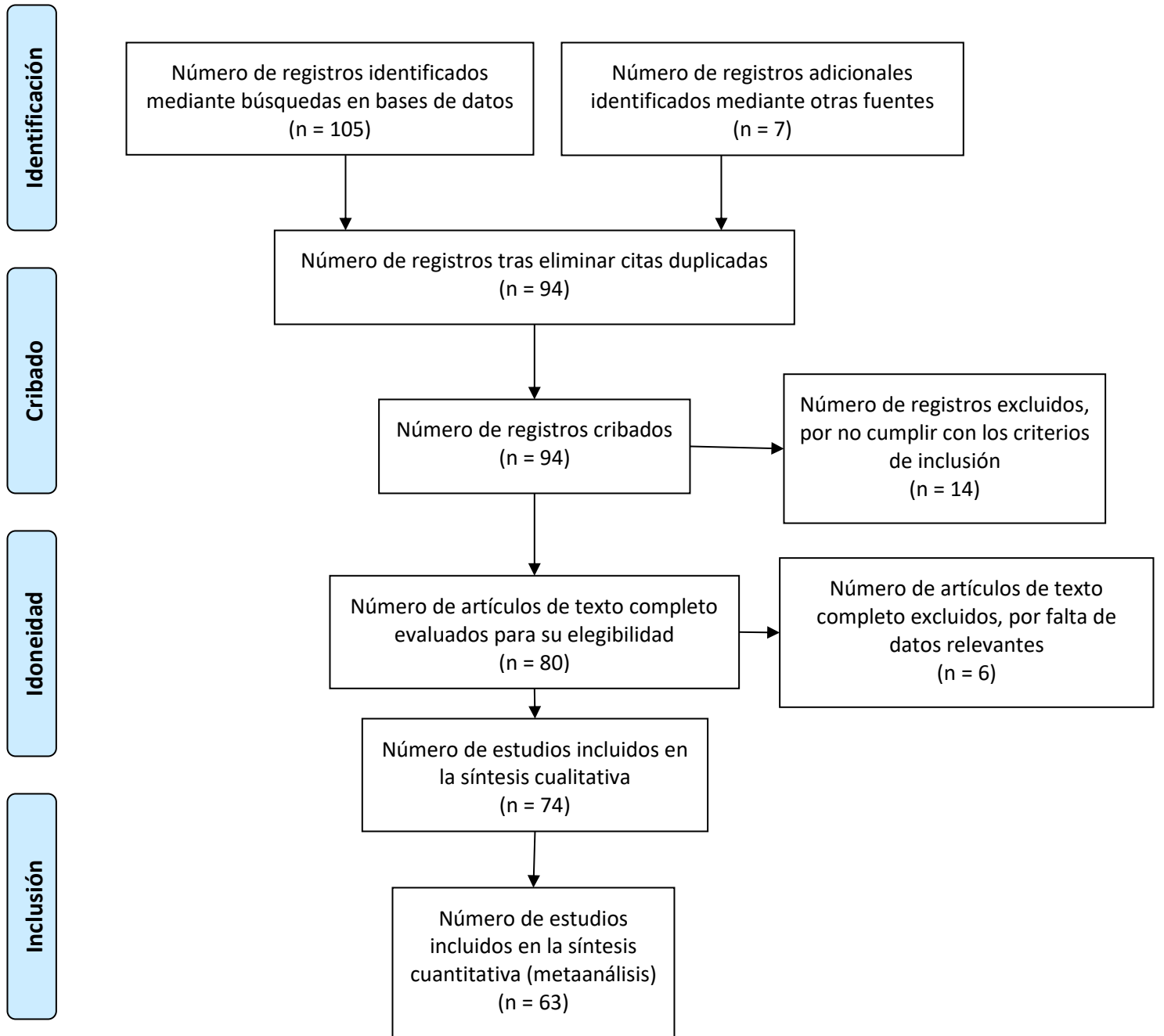
Se compararon el rendimiento (recuperación, precisión, sensibilidad), la adaptabilidad a diferentes matrices y antibióticos, el consumo de solventes, el tiempo de análisis y la compatibilidad con detectores de alta selectividad frente a detectores convencionales.

- **Síntesis y discusiones:**

Los resultados se presentaron mediante tablas y figuras comparativas organizadas según el tipo de matriz y el antibiótico, siguiendo el formato PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses).

En la discusión se abordaron las implicaciones analíticas de las técnicas utilizadas, las tendencias hacia métodos más rápidos y con menor uso de solventes, así como las oportunidades para estandarizar protocolos de acuerdo con las normativas y las características de las matrices. El artículo final se realizó con las siguientes secciones: Resumen, Introducción, Metodología, Desarrollo y Discusión, Conclusiones y Referencias.

Inicialmente se identificaron 112 estudios potenciales, de los cuales, tras aplicar los criterios de inclusión y exclusión y eliminar duplicados, se seleccionaron 63 estudios para una revisión completa, detallada en el diagrama de flujo PRISMA (Figura 1). La extracción de datos incluyó variables como año de publicación, tipo de estudio, objetivos, metodología, resultados y conclusiones.



**Figura 1.** Diagrama de flujo PRISMA 2009 [75]

### 3. DESARROLLO Y DISCUSIÓN

El presente análisis de los métodos cromatográficos utilizados en la detección y cuantificación de residuos de antibióticos en matrices de origen animal, permite identificar las tendencias, estudiar el desempeño y reconocer los desafíos actuales en relación con la inocuidad alimentaria y el exponencial problema de la resistencia antimicrobiana. Este apartado abordará, la clasificación de los antibióticos, los tipos de matrices que fueron evaluadas en los estudios, las técnicas cromatográficas usadas, las validaciones de las metodologías, sus aplicaciones y perspectivas a futuro.

#### 3.1 Clasificación de antibióticos y características fisicoquímicas:

Los antibióticos más frecuentemente usados en la producción pecuaria, incluyen los  $\beta$ -lactámicos, tetraciclinas, aminoglucósidos, macrólidos, polipeptídicos, sulfonamidas y quinolonas/fluoroquinolonas. [6,15,20] Cada una de estas familias presenta propiedades fisicoquímicas particulares que condicionan los métodos analíticos y, en consecuencia, la eficiencia de su detección.

En el caso de los  $\beta$ -lactámicos, su labilidad frente a la hidrólisis requiere implementar extracciones que sean rápidas bajo condiciones suaves, evitando la degradación del anillo  $\beta$ -lactámico. [20,27] Las tetraciclinas, caracterizadas por múltiples valores de pKa y su tendencia a formar complejos con cationes metálicos, requieren un control riguroso del pH y reducción de iones interferentes, para mejorar la recuperación. [17,38,61,64]

Los aminoglucósidos, son extremadamente polares, y presentan baja retención en fases reversas convencionales, lo que hace necesario el empleo de cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC) o fases móviles con modificadores iónicos. [58] Por otro lado, los macrólidos y polipeptídicos, de carácter lipofílico, tienden a acumularse en fracciones grasas, lo que incrementa la complejidad de las matrices de origen animal y requiere el uso de sorbentes lipofílicos durante la preparación de muestra. [30,32,62]

Las sulfonamidas, de polaridad intermedia, son especialmente aptas para el desarrollo de métodos multiresiduo, ya que, presentan buena respuesta tanto en fases reversas como en electrospray. [15,47,67] Finalmente, las quinolonas y fluoroquinolonas, son químicamente estables y con una excelente respuesta en ionización electrospray, debido a su uso frecuente en la producción animal y su importancia para la resistencia antimicrobiana, estos compuestos se han convertido en objetivos claves para la detección por LC-MS/MS. [3,18,52]

Las características fisicoquímicas, de los compuestos mencionados anteriormente, explican la predominancia de columnas C18 y variantes polares en las separaciones cromatográficas, así como el uso de fases móviles volátiles basadas en mezclas de agua y acetonitrilo modificadas con ácido fórmico y sales de amonio, que optimizan la compatibilidad con espectrometría de masas. [11,15,52]

#### 3.2 Matrices de origen animal estudiadas:

En esta revisión sistemática, se incluyó matrices como: leche, carne, hígado, huevos, pescado y productos acuáticos, estas matrices tienen diferentes características que condicionan la preparación y el desempeño cromatográfico.

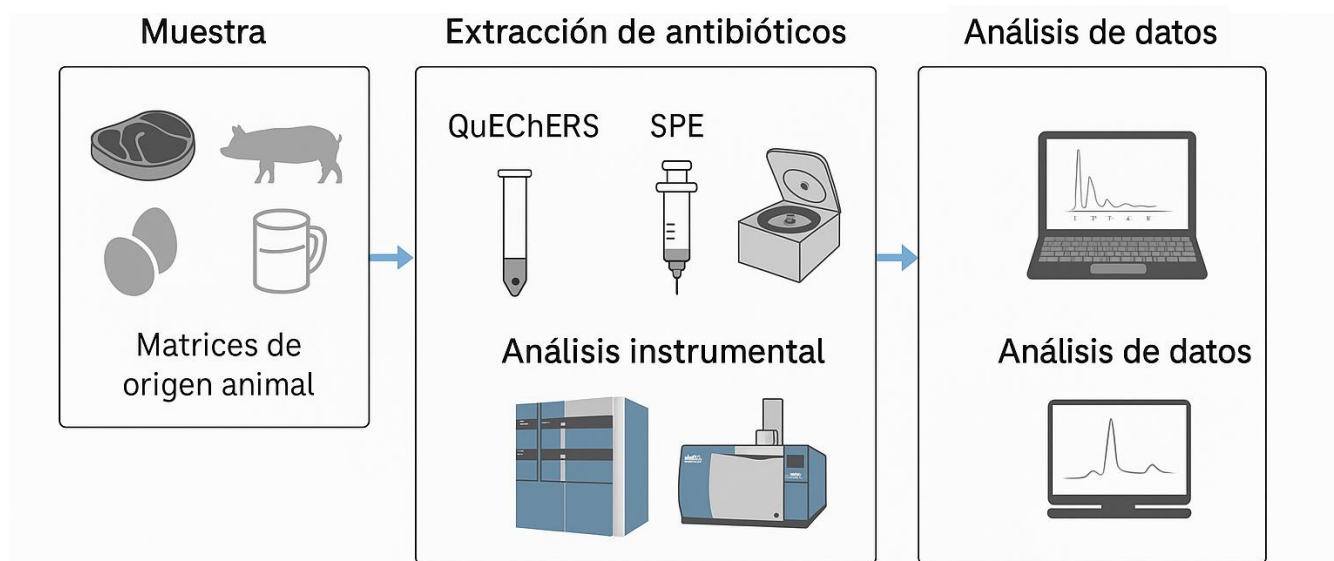
En la leche, su alta complejidad proteica y lipídica genera efectos de matriz considerables, los cuales, pueden provocar supresión o realce de la señal en sistemas de ionización. [2,48] Los métodos de preparación más empleados incluyen variantes de QuEChERS, extracción en fase sólida (SPE) y desproteinización con solventes orgánicos, con eficacias variables en función de la clase de antibiótico y el detector acoplado. [51,52,74]

En carne, ya que sea bovina, porcina o aviar, la distribución de los residuos de antibióticos, no es uniforme. Esta heterogeneidad estructural obliga a diferenciar entre los distintos tejidos durante el análisis. [10,11] Los residuos tienden a acumularse en órganos metabólicamente activos, como hígado y riñón, donde se concentran las tetraciclinas y los  $\beta$ -lactámicos, mientras que, en el músculo las concentraciones suelen ser menores, aunque no despreciables. [17,46]

Ahora bien, en este contexto el hígado y otros órganos, actúan como reservorios metabólicos, debido a su función en la biotransformación y excreción de sustancias, lo que hace que los antibióticos, permanezcan en ellos por más tiempo, favoreciendo la formación de metabolitos activos que complican la identificación y cuantificación analítica. [11,17]

En el caso de los huevos, se evidenciaron dos desafíos importantes. El primero, fue el análisis de la yema, debido su matriz lipoproteica, que actúa como una barrera analítica, dificultando la extracción de antibióticos lipofílicos como los macrólidos. El segundo fue la albúmina de la clara, ya que, esta puede interaccionar con compuestos polares como aminoglucósidos, generando pérdidas durante la extracción y reduciendo la reproducibilidad. [13,45,53]

Finalmente, en pescados y productos acuáticos, también se presentan otros desafíos adicionales, debido a su elevado contenido lipídico y su capacidad de bioacumulación en tejidos musculares y grasos, requiriendo etapas de limpieza selectiva con sorbentes lipofílicos o la aplicación de protocolos de extracción en múltiples etapas. [16,32,35,42,44] Además, la posible contaminación con metabolitos acuáticos o antibióticos utilizados en acuicultura intensiva incrementa la complejidad del análisis y la necesidad de métodos multiresiduo capaces de discriminar entre compuestos estructuralmente similares. [15,31,32,44,70]



**Figura 2.** Esquema general del análisis de residuos de antibióticos en matrices de origen animal mediante métodos cromatográficos.

### 3.3 Técnicas cromatográficas utilizadas:

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección UV, FLD o DAD, sigue siendo ampliamente usada en los laboratorios de control, gracias a su accesibilidad y bajo costo. Esta técnica, ha demostrado ser útil para la determinación de sulfonamidas y tetraciclinas en leche y carne, alcanzando recuperaciones entre 70–90 %. [14,71] Sin embargo, su selectividad y sensibilidad son restringidas, en matrices más complejas, debido a la interferencia de componentes endógenos como proteínas, lípidos y sales, los cuales, generan ruido de fondo y coeluciones no resueltas. Además, al carecer de la capacidad de identificar de manera inequívoca compuestos en presencia de metabolitos o análogos estructurales, presenta mayor riesgo de falsos positivos o negativos en comparación con técnicas acopladas a espectrometría de masas, lo que compromete su fiabilidad en programas oficiales de monitoreo.

La cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC), representa un avance significativo en comparación a la HPLC, ya que, mejora la resolución, reduce los tiempos de análisis y disminuye el consumo de solventes. Su mayor ventaja se observa al acoplarla con MS/MS, donde ha permitido la detección multiclasa de  $\beta$ -lactámicos, quinolonas y macrólidos en leche, huevo y carne con recuperaciones en el rango de 80–110 %, y límites de

detección en µg/kg, muy por debajo de los MRLs. [15,20,52,66] Estos resultados confirman su idoneidad como herramienta de referencia en vigilancia alimentaria.

La cromatografía de gases (GC) se ha utilizado de manera más restringida, principalmente para la determinación de compuestos volátiles o que requieren derivatización, como el cloranfenicol y los nitrofuranos, en pescado y carne. Aunque los métodos reportados alcanzan LOD/LOQ en el rango de µg/kg y recuperaciones entre 75–95 %, la necesidad de derivatización previa limita su aplicabilidad rutinaria, además de incrementar la variabilidad analítica. [40,41,68,69]

Las técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas, como LC-MS/MS y GC-MS, se consideran el estándar de referencia para el análisis de residuos de antibióticos. Estas metodologías multiresiduo han demostrado una gran capacidad para identificar de manera simultánea hasta 100 compuestos en una corrida, con recuperaciones superiores al 80% y límites de detección y cuantificación en el rango de µg/kg. [11,15,28,43,55,62,73]

La LC-MS/MS ha demostrado ser altamente eficaz en matrices lácteas y cárnicas, mientras que GC-MS se reserva para compuestos específicos de difícil análisis por LC. Estas características explican su adopción generalizada en los programas de control oficiales y en laboratorios de referencia.

**Tabla 2.** Comparación de técnicas cromatográficas aplicadas al análisis de residuos de antibióticos en matrices de origen animal.

Técnica	Antibióticos analizados	Matriz	Recuperación (%)	Ventajas	Limitaciones
<b>HPLC-UV/FLD/DAD</b>	Sulfonamidas, tetraciclinas, ciprofloxacina [12,14,71]	Leche, carne, huevos	70–90 % (hasta 88 % en huevos con ciprofloxacina)	Bajo costo, fácil implementación, disponible en la mayoría de laboratorios de control	Baja sensibilidad y selectividad en matrices complejas; LOD en µg/kg; menor precisión que LC-MS/MS; depende del detector
<b>UHPLC-MS/MS</b>	Multiclase: β-lactámicos, quinolonas, macrólidos, polipéptidos, sulfonamidas (hasta 214 compuestos) [15,20,27,28,30,32,52,66,72]	Leche, huevo, carne, hígado, pescado, acuicultura	80–110 % (varios estudios reportan $R^2 > 0.995$ y $RSD < 10\%$ )	Alta resolución, detección rápida, posibilidad multiresiduo, sensibilidad en ng/kg, aplicable a múltiples matrices	Alto costo, requiere personal especializado; algunos métodos no cubren todas las matrices (ej. músculo/riñón con QuEChERS limitado)
<b>GC-MS</b>	Cloranfenicol, nitrofuranos y compuestos termoestables [40,41,68,69]	Pescado, carne	75–95 %	Alta especificidad y sensibilidad para compuestos volátiles; métodos	Necesidad de derivatización previa, lo que aumenta el tiempo de análisis y variabilidad;

				reportan LOD < 1 µg/kg	limitada a analitos termolábiles y volátiles
--	--	--	--	------------------------	--

### 3.4 Validación de métodos analíticos:

La validación de los métodos cromatográficos, constituye un requisito esencial para garantizar la confiabilidad y comparabilidad de los resultados, especialmente en el contexto de los programas oficiales de control de residuos. Las directrices internacionales más empleadas son la Decisión 2002/657/CE de la Unión Europea, las guías del Codex Alimentarius y los lineamientos de la FDA en Estados Unidos. [6] Estas normativas establecen parámetros obligatorios que incluyen: límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ), linealidad, exactitud, precisión, recuperación, robustez y evaluación del efecto matriz.

En la literatura revisada, la mayoría de los estudios cumplen con la determinación de LOD/LOQ en rangos adecuados, alcanzando niveles de µg/kg en métodos LC-MS/MS y, en algunos casos, valores incluso inferiores a los límites máximos de residuos (MRLs) establecidos por la UE y el Codex. Ejemplos destacados incluyen métodos multiresiduo aplicados en leche y carne con LOD tan bajos como 0,1–0,5 µg/kg y recuperaciones consistentes en el rango de 82–108%, lo que confirma su idoneidad para vigilancia rutinaria. [12,16,17,20] En estudios con UHPLC-MS/MS, se reportaron recuperaciones cercanas al 100 % y repetibilidad (RSD) inferior al 10 %, superando ampliamente los requisitos regulatorios. [13,22]

Sin embargo, se identificaron inconsistencias importantes en la presentación de parámetros críticos:

- Estudios incompletos de estabilidad, que limitan la extrapolación de resultados a condiciones reales de almacenamiento y transporte de muestras. [14]
- Escasa evaluación de efectos de matriz, particularmente en matrices complejas como huevos y pescado, donde se observó supresión de señal de hasta un 30 % en LC-MS/MS, lo que puede comprometer la exactitud si no se emplean estándares internos o corrección isotópica. [13,16]
- Variabilidad en los criterios de recuperación y repetibilidad, con valores aceptados entre 70–120 %, dependiendo de la normativa empleada, lo cual, dificulta la comparación transversal entre laboratorios. [12,17]

Un aspecto importante, es que en varios estudios recientes se han incorporado ensayos de robustez mediante diseño experimental (DoE), evaluando factores como la variación en la fase móvil, la temperatura de columna o la composición del sorbente en SPE. [22] Estas estrategias, fortalecen la reproducibilidad interlaboratorio y permiten identificar variables críticas que impactan el rendimiento del método. Sin embargo, la ausencia de protocolos de validación armonizados a nivel internacional sigue siendo una limitante, principalmente cuando se comparan datos provenientes de regiones con diferentes marcos regulatorios. [6]

Si bien, la validación de métodos cromatográficos ha avanzado hacia estándares más estrictos y sensibles, la falta de homogeneidad en el reporte de parámetros y la insuficiente evaluación de matrices complejas, muestran la necesidad de una mayor estandarización global. Esto permitiría no solo garantizar la comparabilidad de resultados, sino también, facilitar la aceptación internacional de los datos generados en los programas de monitoreo de residuos de antibióticos en alimentos de origen animal. [6,12,16,22]

**Tabla 3.** Parámetros de validación reportados en métodos cromatográficos aplicados al análisis de antibióticos en matrices de origen animal.

Referencia	Matriz	Antibióticos evaluados	Recuperación (%)	Linealidad (R <sup>2</sup> )	Precisión (RSD%)	Observaciones
[12] Sharma & Kumar (2025)	Leche caprina	Quinolonas, tetraciclinas	82–95	>0.995	<10	Método QuEChERS-HPLC validado, resultados adecuados para leche en zonas rurales

[13] Wang et al. (2021)	Huevos	Macrólidos, tetraciclinas	85–110	>0.99	5–12	UHPLC-MS/MS con dispersive-SPE, alta eficiencia en matrices lipídicas
[14] Benítez-Villalba et al. (2023)	Huevos	Ciprofloxacina	70–88	0.998	<15	HPLC-UV validado localmente, menor sensibilidad frente a métodos acoplados a MS
[17] Mohammed et al. (2022)	Carne bovina (riñón y músculo)	Tetraciclinas	75–92	>0.99	<12	Mayor acumulación en hígado y riñón que en músculo, efecto matriz evidente
[16] Bortolotte et al. (2021)	Pescado (tilapia)	Quinolonas, sulfonamidas	80–105	0.996	<8	LC-MS/MS multirresiduo, validación completa bajo criterios UE
[22] Yang et al. (2022)	Miel	Multiclase (15 antibióticos)	81.3–99	0.999	<10	UHPLC-MS/MS, aplicó DoE para evaluar robustez y reproducibilidad

### 3.5 Aplicaciones en programas de control de residuos:

La implementación de métodos cromatográficos validados, ha sido clave en los programas de monitoreo de residuos en alimentos de origen animal. Los estudios revisados documentan aplicaciones en leche, carne, huevos y pescado comercializados, mostrando patrones importantes:

- En leche bovina y caprina, se reportaron con frecuencia residuos de tetraciclinas, sulfonamidas y  $\beta$ -lactámicos, aunque en la mayoría de los casos las concentraciones estaban por debajo de los MRLs. Sin embargo, se evidenciaron excesos puntuales en regiones con baja regulación, lo que representa un riesgo para la salud pública. [12,18,51,74]
- En carne de pollo y bovino, los hallazgos incluyen la presencia de quinolonas y tetraciclinas en músculos y, con mayor frecuencia, en órganos como hígado y riñón, confirmando el rol de estos órganos como reservorios. [10,17,20,46]
- En huevos, la yema mostró acumulación de antibióticos lipofílicos como macrólidos y cloranfenicol, mientras que en la albúmina se detectaron residuos de compuestos polares como aminoglucósidos. [13,14,53,68]
- En peces de consumo masivo, particularmente tilapia y bagre, los antibióticos más frecuentes fueron fluoroquinolonas y sulfonamidas, lo que refleja tanto el uso terapéutico en acuicultura como la persistencia en ecosistemas acuáticos. [16,31,42,44,70]

Un aspecto crítico es que, aunque la mayoría de las muestras cumplen con los LMRs establecidos por la UE y el Codex, algunos estudios regionales en Asia, África y América Latina muestran deficiencias de vigilancia, lo que contribuye a la circulación de productos contaminados en los mercados locales. [6,19,21,36,39]

Estas aplicaciones evidencian la importancia de los métodos cromatográficos no solo para la inocuidad alimentaria, sino también, para el control de la resistencia antimicrobiana (RAM), ya que, la exposición crónica a bajas dosis de antibióticos en alimentos contribuye a la selección de cepas resistentes. De ahí que organismos internacionales (OMS, FAO, WOA) recomienden fortalecer los sistemas de monitoreo con técnicas confirmatorias como LC-MS/MS. [1,5,7,8,9]

**Tabla 4.** Resumen de las aplicaciones de métodos cromatográficos en programas de control de residuos en alimentos de origen animal.

Matriz	Antibióticos identificados	Patrones observados	Nivel respecto a MRLs	Aspectos críticos / Implicaciones	Referencias
<b>Leche (bovina y caprina)</b>	Tetraciclinas, sulfonamidas, $\beta$ -lactámicos	Alta frecuencia de detección en muestras analizadas.	Generalmente < MRLs, aunque con excedentes puntuales en zonas con baja regulación.	Riesgo para la salud pública por falta de control; necesidad de sistemas de vigilancia más robustos.	[12,18,51,74]
<b>Carne (pollo y bovino)</b>	Quinolonas, tetraciclinas	Residuos más elevados en hígado y riñón que en músculo.	Algunas concentraciones cercanas o superiores al MRL.	Confirma función de órganos como reservorios; destaca la importancia de diferenciar tejidos en los programas de control.	[10,17,20,46]
<b>Huevos</b>	Macrólidos, cloranfenicol, aminoglucósidos	Yema: acumulación de compuestos lipofílicos. Clara: residuos de compuestos polares.	Reportes de residuos en ambos compartimentos, con variabilidad según clase antibiótica.	Complejidad de la matriz lipoproteica afecta recuperación y reproducibilidad.	[13,14,53,68]
<b>Peces (tilapia, bagre)</b>	Fluoroquinolonas, sulfonamidas	Residuos frecuentes en peces de consumo masivo.	Niveles que reflejan uso terapéutico y persistencia ambiental.	Bioacumulación en tejidos musculares y grasos; necesidad de métodos multiresiduo robustos.	[16,31,42,44,70]
<b>Estudios regionales (Asia, África, A. Latina)</b>	Multiclase (varias familias)	Presencia de residuos en matrices diversas.	Algunos casos > MRLs, sin seguimiento regulatorio adecuado.	Deficiencias de vigilancia $\rightarrow$ productos contaminados circulan en mercados locales.	[6,19,21,36,39]

### 3.6 Desafíos y perspectivas futuras:

A pesar de los diferentes avances, persisten retos importantes, en la implementación de métodos cromatográficos. Uno de los principales, es la necesidad de técnicas rápidas, de bajo costo y accesibles, que puedan adoptarse en laboratorios de control rutinario. [6,30,39,71] En este sentido, la integración de tecnologías automatizadas y portátiles, junto con plataformas de microfluídica, representa una alternativa para llevar el monitoreo a los puntos de producción y reducir los tiempos de respuesta. [28,49]

Asimismo, la aplicación de nanotecnología y biosensores, se perfilan como estrategia de cribado rápido, complementando a la cromatografía convencional y disminuyendo el consumo de reactivos. [61,62] Estas

innovaciones se vinculan a la tendencia de la química analítica verde, que promueve métodos más sostenibles basados en el uso de solventes alternativos. [64,67] Finalmente, los métodos cromatográficos continúan desempeñando un papel relevante en la lucha contra la resistencia antimicrobiana, ya que, permite detectar residuos a nivel des trazas. [1,5,7,8,59]

Finalmente, la consolidación de redes internacionales de laboratorios de referencia, la armonización de protocolos de validación y la transferencia de tecnologías innovadoras, serán determinantes para garantizar alimentos libres de contaminantes y reducir el impacto de la resistencia antimicrobiana en salud pública a nivel global. [9,25]

#### **4. CONCLUSIONES**

En la presente revisión sistemática, se confirmó que los métodos cromatográficos son herramientas confiables para la detección y cuantificación de residuos de antibióticos, en alimentos de origen animal, debido a su alta sensibilidad y especificidad. El análisis de las investigaciones mostró que las diferentes familias de antibióticos presentan propiedades fisicoquímicas que condicionan la preparación de la muestra, la elección de fases estacionarias y móviles, lo que corrobora la necesidad de enfoques analíticos adaptados a cada compuesto y matriz.

Las diferentes matrices (leche, carne, huevos, hígado y pescado) evaluadas en las investigaciones, plantean varios desafíos analíticos, debido a su complejidad proteica y lipídica, así como, por la acumulación diferencial en los tejidos. Bajo estas circunstancias, las técnicas como UHPLC-MS/MS y LC-MS/MS se consolidan como métodos de referencia, que permiten el análisis multiresiduo con límites de detección en el rango de  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y altos niveles de recuperación, mientras que, la HPLC y la GC conservan aplicaciones específicas aunque más limitadas.

En cuanto a los estudios que realizaron validaciones, cumplieron en gran medida con los parámetros internacionales, alcanzando recuperaciones entre el 80 y 110 %, excelente linealidad y precisión adecuada. Sin embargo, existen vacíos en la evaluación de estabilidad de los diferentes compuestos, robustez de los métodos y efectos de matriz, lo cual, dificulta la comparabilidad de resultados y resalta la necesidad de protocolos armonizados a nivel internacional.

Ahora bien, en cuanto a las aplicaciones prácticas, se evidenció la presencia recurrente de residuos en alimentos de consumo masivo, generalmente por debajo de los LMRs, aunque con excedencias en algunas regiones con baja regulación. Este hallazgo tiene implicaciones directas para la inocuidad alimentaria y para el control de la resistencia antimicrobiana, dado que la exposición crónica a bajas concentraciones de antibióticos favorece la selección de cepas resistentes.

Finalmente, los resultados permiten proponer nuevas líneas de investigación orientadas al desarrollo de métodos rápidos, de bajo costo y sostenibles. Asimismo, la exploración de tecnologías emergentes como biosensores, nanotecnología o sistemas microfluídicos. La consolidación y armonización de protocolos, se perfilan como una condición necesaria para garantizar la comparabilidad global de los resultados y fortalecer la seguridad de los alimentos en el contexto de la salud pública y la resistencia antimicrobiana.

#### **5. AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar primero mi agradecimiento a Dios, quien me dio fortaleza y sabiduría para llegar a hasta este momento. Quiero agradecerles a mis padres Elcy y Jhon Jairo, y a mis hermanos Alejandra e Isaac, por su amor incondicional, por su motivación constante, y por ser mi inspiración. también, quiero agradecerle a mi compañero de vida, Juan Pablo y a mis suegros Diana y James, por estar a mi lado en los momentos más difíciles, por brindarme su amor, su apoyo y fuerzas para continuar. Finalmente, quiero darle especial agradecimiento a la profesora Sandra, por brindarme su acompañamiento en este camino, su paciencia y su guía, fueron fundamentales en este proceso.

#### **6. DECLARACION DEL USO DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL**

Yo, Elcy Johana Gañan Sánchez, declaro que para la elaboración de esta revisión sistemática no se utilizaron herramientas de inteligencia artificial (IA).

## 7. CONFLICTO DE INTERESES

Yo, Elcy Johana Gañan Sánchez, declaro que para la elaboración de esta revisión sistemática se actuó de una manera honesta, coherente e imparcial, evitando siempre los conflictos de interés.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] World Health Organization. (2023). Antimicrobial resistance [Hoja informativa]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

[2] Wu, X., Lin, Y., Zhang, X., Ouyang, N., & Zhou, Y. (2023). Optimization of QuEChERS Method for Antibiotic Residue Analysis in Animal Foods via Response Surface Methodology. *Separations*, 10(8), 459. <https://doi.org/10.3390/separations10080459>

[3] Chan, C. L., Wai, H. K., Wu, P., Lai, S. W., Chan, O. S., & Tun, H. M. (2022). A Universal LC-MS/MS Method for Simultaneous Detection of Antibiotic Residues in Animal and Environmental Samples. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(7), 845. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070845>

[4] Antos, J., García-Cansino, L., García, M. Á., Ginter-Kramarczyk, D., Marina, M. L., Zembrzuska, J., Câmara, J. S., & Pereira, J. A. M. (2025). Improved methodology to survey veterinary antibiotics in environmental samples using  $\mu$ SPEed microextraction followed by ultraperformance liquid chromatography. *Communications Chemistry*, 8, Article 68. <https://doi.org/10.1038/s42004-025-01454-w>

[5] Instituto Nacional de Salud; Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos (ERIA). (2023). Metodología: aplicación del enfoque de evaluación de riesgos de la resistencia antimicrobiana transmitida por los alimentos en la cadena agroalimentaria. Bogotá, D.C., Colombia.

[6] Khalifa, H. O., Shikoray, L., Mohamed, M.-Y. I., Habib, I., & Matsumoto, T. (2024). Veterinary Drug Residues in the Food Chain as an Emerging Public Health Threat: Sources, Analytical Methods, Health Impacts, and Preventive Measures. *Foods*, 13(11), 1629. <https://doi.org/10.3390/foods13111629>

[7] World Health Organization. (2022). Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022. <https://iris.who.int/handle/10665/364996>. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO

[8] Organización Panamericana de la Salud. (2021). La resistencia antimicrobiana pone en riesgo la salud mundial. <https://www.paho.org/es/noticias/3-3-2021-resistencia-antimicrobiana-pone-riesgo-salud-mundial>

[9] World Health Organization. (2025). Global Database for Tracking Antimicrobial Resistance (AMR) Country Self-Assessment Survey (TrACSS): Country profile – Colombia. <https://new.amrcountryprogress.org/country/colombia/>

[10] Stavroulaki, A., Tzatzarakis, M. N., Karzi, V., Katsikantami, I., Renieri, E., Vakonaki, E., Avgenaki, M., Alegakis, A., Stan, M., Kavvalakis, M., Rizos, A. K., & Tsatsakis, A. (2022). Antibiotics in Raw Meat Samples: Estimation of Dietary Exposure and Risk Assessment. *Toxics*, 10(8), 456. <https://doi.org/10.3390/toxics10080456>

[11] Magalhães, D., Freitas, A., Vila Pouca, A. S., Barbosa, J., & Ramos, F. (2020). The use of ultra-high-pressure-liquid-chromatography tandem time-of-flight mass spectrometry as a confirmatory method in drug residue analysis: Application to the determination of antibiotics in piglet liver. *Journal of Chromatography B*, 1153, 122264. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122264>

- [12] Sharma, A., & Kumar, A. (2025). Detection of antibiotics in migratory goat milk using QuEChERS-HPLC approach and human health risk assessment in Himalayan region, India. *Food Analytical Methods*, 18, 218–228. <https://doi.org/10.1007/s12161-024-02713-7>
- [13] Wang, C., Li, X., Yu, F., Wang, Y., Ye, D., Hu, X., Zhou, L., Du, J., & Xia, X. (2021). Multi-class analysis of veterinary drugs in eggs using dispersive-solid phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 334, 127598. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127598>
- [14] Benítez-Villalba, Julio César, Barrios, Martiniano, & Benítez-Peña, Mercedes. (2023). Validación de una metodología analítica para la cuantificación de la ciprofloxacina en huevos de gallinas mediante HPLC. *Reportes científicos de la FACEN*, 14(1), 50-61. <https://doi.org/10.18004/rcfacen.2023.14.1.50>
- [15] Desmarchelier, A., Bessaire, T., Savoy, M.-C., Tarres, A., Mujahid, C., Beck, A., Mottier, P., & Delatour, T. (2021). Screening of 154 veterinary drug residues in foods of animal origin using LC–MS/MS: First Action 2020.04. *Journal of AOAC International*, 104(3), 650–681. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsaa168>
- [16] Bortolotte, A. R., Daniel, D., & Reyes Reyes, F. G. (2021). Occurrence of antimicrobial residues in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets produced in Brazil and available at the retail market. *Food Research International*, 140, 109865. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109865>
- [17] Mohammed, N., Mengistu, D. A., Abdurehman, A., Belina, D., & Mengistu, S. (2022). Determination of tetracycline residues in kidney and muscle of beef cattle slaughtered in Dire Dawa and Harar municipal abattoirs, Eastern Ethiopia. *Environmental Health Insights*, 16. <https://doi.org/10.1177/11786302221109720>
- [18] Zhang, L., Shi, L., He, Q., Wang, Y., Liu, H., & Li, Y. (2021). A rapid multiclass method for antibiotic residues in goat dairy products by UPLC-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry. *Journal of Analytical Science and Technology*, 12, 14. <https://doi.org/10.1186/s40543-021-00268-4>
- [19] Carrizo, J. C. (2023). Evaluación de contaminantes emergentes en peces de consumo y su potencial riesgo para la salud humana [Tesis doctoral, Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Químicas]. Repositorio Digital Universitario UNC. <http://hdl.handle.net/11086/546338>
- [20] Park, S. Y., Kim, Y. R., Lim, S. J., Lee, H. J., & Kang, H. J. (2024). Simultaneous detection of residues of 34 beta-lactam antibiotics in livestock and fish samples through liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Science and Biotechnology*, 33, 1467–1486. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01405-y>
- [21] Torres Chic, N. N. (2021). Evaluación de residuos de antibióticos en miel de abeja (*Apis mellifera*) en Guatemala. *Revista Ciencia Multidisciplinaria CUNORI*, 5(2), 37–47. <https://doi.org/10.36314/cunori.v5i2.167>
- [22] Yang, Y., Lin, G., Liu, L., & Lin, T. (2022). Rapid determination of multi-antibiotic residues in honey based on modified QuEChERS method coupled with UPLC–MS/MS. *Food Chemistry*, 374, Article 131733. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131733>
- [23] Moumeni, L., Ouchemoukh, S., Leite, M., Rodrigues, H., Soares, R., Sunilkumar, D., d'Amessis-Ouchemoukh, N., Guenaoui, N., Bencheikhchoukh, L., Oliveira, B., & Freitas, A. (2025). Enfoque UHPLC-ToF-MS para el análisis de residuos de antibióticos en miel argelina: una evaluación preliminar. *Food Control*, 178, 111509. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2025.111509>
- [24] Xu, J., Yang, M., Wang, Y., Yang, Y., Tu, F., Yi, J., Hou, J., Lu, H., Jiang, X., & Chen, D. (2021). Multiresidue analysis of 15 antibiotics in honey using modified QuEChERS and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 103, 104120. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104120>
- [25] United Nations. (2022). Objetivos de Desarrollo Sostenible. En *Desarrollo Sostenible*. Recuperado [7 de agosto de 2025], de <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>

- [26] Al-Amri, I., Kadim, I. T., AlKindi, A., Hamaed, A., Al-Magbali, R., Khalaf, S., Al-Hosni, K., & Mabood, F. (2021). Determinación de residuos de pesticidas, esteroides anabólicos, antibióticos y compuestos antibacterianos en productos cárnicos en Omán mediante cromatografía líquida/espectrometría de masas y ELISA. *Veterinary World*, 14(3), 709–720. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.709-720>
- [27] Amelin, V. G., Bol'shakov, D. S., & Podkolzin, I. V. (2020). Rapid detection of residual  $\beta$ -lactam antibiotics in food by ultra-high-performance liquid chromatography and quadrupole time-of-flight high-resolution mass spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*, 75(7), 1177–1188. <https://doi.org/10.1134/S1061934820070023>
- [28] Amelin, V. G., Lavrukhina, O. I., Tretyakov, A. V., et al. (2024). Sample screening and determination of 214 veterinary drug residues in food using chromatography–high-resolution mass spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*, 79(2), 200–218. <https://doi.org/10.1134/S1061934824020023>
- [29] Igualada Cañas, C. (2022). *Análisis de alimentos de origen animal, agua de bebida para animales y piensos por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de baja y alta resolución* [Tesis doctoral, Universitat de València]. Universitat de València Repositorio. <https://webges.uv.es/public/uvEntreuWeb/tesis/tesis-1944496-S5NQLVKVL3UON892.pdf>
- [30] Bladek, T., Szymanek-Bany, I., & Posyniak, A. (2020). Determination of polypeptide antibiotic residues in food of animal origin by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Molecules*, 25(14), 3261. <https://doi.org/10.3390/molecules25143261>
- [31] Campanharo, S. C., da Silva, A. F. B., Bleuzen, A., da Silva, J. J. M., de Freitas, L. V. P., Assane, I. M., Pilarski, F., & Paschoal, J. A. R. (2023). Association of modified QuEChERS and DLLME for high detectability of erythromycin depletion in fish. *Food Chemistry*, 405, 134852. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134852>
- [32] Chen, J., Mei, G., Zhang, X., Huang, D., He, P., & Xu, D. (2024). Dispersive solid-phase extraction and UHPLC–MS/MS for rapid detection of 10 macrolide residues in aquatic products. *Foods*, 13(6), 866. <https://doi.org/10.3390/foods13060866>
- [33] Chi, K. X., Yu, H., Guo, Y. H., Cheng, Y. L., Xie, Y. F., & Yao, W. R. (2022). Development of UPLC–MS/MS method for determining hainanmycin in foods of animal origin. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 39(8), 1401–1411. <https://doi.org/10.1080/19440049.2022.2083693>
- [34] Benítez-Villalba, J. C., Silva Peña, R. A., Cristaldo López, O. D., Bogado-Fernández, A. I., & Arrúa-Martínez, L. A. (2024). Detección y cuantificación de la norfloxacin en carne de pollos de supermercados del Gran Asunción. *Reportes Científicos de la FACEN*, 15(1), 3–14. <https://doi.org/10.18004/rcfacen.2024.15.1.003>
- [35] Diamanti, I., Branciarì, R., Saluti, G., Carloni, C., Roila, R., & Fioroni, L. (2025). Simultaneous determination of antibiotic residues in edible tissue of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Italian Journal of Food Safety*, 14(2), 12947. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2025.12947>
- [36] Er Demirhan, B., & Demirhan, B. (2022). Detection of antibiotic residues in blossom honeys from Turkey by LC–MS/MS. *Antibiotics*, 11(3), 357. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030357>
- [37] Carrizo, J. C. (2022). *Determinación de residuos de antibióticos en alimentos de origen animal mediante LC-MS/MS* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Córdoba]. Repositorio Digital Universitario UNC. <https://rdu.unc.edu.ar/items/1d250a7d-c954-40b6-a032-f8cbd83c3549>
- [38] Gab-Allah, M. A., Lijalem, Y. G., Yu, H., Lim, D. K., Ahn, S., Choi, K., & Kim, B. (2023). Accurate determination of four tetracycline residues in chicken meat by isotope dilution LC–MS/MS. *Journal of Chromatography A*, 1691, 463818. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.463818>

- [39] Getahun, M., Abebe, R. B., Sendekie, A. K., Woldeyohanis, A. E., & Kasahun, A. E. (2023). Evaluation of antibiotic residues in milk and meat using different analytical methods. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2023, 4380261. <https://doi.org/10.1155/2023/4380261>
- [40] Guo, Y., Xie, X., Diao, Z., Wang, Y., Wang, B., Xie, K., ... & Zhang, P. (2021). Detection of spectinomycin and lincomycin in poultry and pork by ASE-SPE-GC-MS/MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, 101, 103979. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103979>
- [41] Han, C., Hu, B., Jin, N., Jin, J., Yu, Z., Huang, C., & Shen, Y. (2021). ASE-GPC-GC-MS/MS for rapid detection of clotrimazole residues in animal-derived food. *LWT*, 144, 111248. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111248>
- [42] Shaaban, H., & Mostafa, A. (2023). Simultaneous determination of antibiotic residues in fish using eco-friendly SPE-UPLC-MS/MS: Occurrence and risk assessment. *Toxicology Reports*, 10, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.11.010>
- [43] Hu, M., Ben, Y. J., Zheng, C. M., Wong, M. H., & Zheng, C. (2021). Trace analysis of multiclass antibiotics in food by LC-MS/MS: Method development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(10), 2874–2883. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05778>
- [44] Jayasinghe, G. D. T. M., Szpunar, J., Lobinski, R., & Edirisinghe, E. M. R. K. B. (2023). Determination of antibiotic residues in farmed fish and shrimp from Sri Lanka by UPLC-MS/MS. *Fishes*, 8(3), 154. <https://doi.org/10.3390/fishes8030154>
- [45] Jia, W., Liu, Y., Xu, X., Zhang, Y., & Shi, L. (2021). Multiplexed analysis of risky drugs in eggs using magnetic ZIFs and UHPLC Q-Orbitrap HRMS. *Journal of Food and Drug Analysis*, 29(3), 490–501. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.3360>
- [46] Jung, Y. S., Kim, D. B., Nam, T. G., Seo, D., & Yoo, M. (2022). Identification and quantification of veterinary drugs and metabolites in beef by LC-MS/MS. *Food Chemistry*, 382, 132313. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132313>
- [47] Kim, Y. R., Park, S. Y., Lee, T. H., Kim, J. Y., Choi, J. D., & Moon, G. (2022). Multi-class, multi-residue analysis of 59 veterinary drugs in livestock products by LC-MS/MS. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 41(4), 288–309. <https://doi.org/10.5338/KJEA.2022.41.4.35>
- [48] Koloka, O., Koulama, M., Hela, D., Albanis, T., & Konstantinou, I. (2023). Determination of multiclass pharmaceutical residues in milk using modified QuEChERS and LC-Orbitrap MS: Comparison of clean-up approaches and validation. *Molecules*, 28(16), 6130. <https://doi.org/10.3390/molecules28166130>
- [49] Lan, H., Li, X., Wu, Z., Pan, D., Gan, N., & Wen, L. (2024). Detection of veterinary drugs in food using a portable mass spectrometer coupled with solid-phase microextraction arrow. *Foods*, 13(20), 3337. <https://doi.org/10.3390/foods13203337>
- [50] Lehotay, S. J., Michlig, N., Lightfield, A. R., Domesle, A., Wiggins, S., Duverna, R., Weyrauch, K., Green, J. E., & Zipperer, L. (2024). Antibiotic residues in cattle reported to be raised without antibiotics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(1), 847–860. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c07440>
- [51] Leite, M., & Freitas, A. (2025). Antibiotics in milk: Validation of analytical methodologies for ensuring food safety. *International Dairy Journal*, 169, 106308. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2025.106308>
- [52] Leite, M., Marques, A. R., Vila Pouca, A. S., Barros, S. C., Barbosa, J., Ramos, F., Afonso, I. M., & Freitas, A. (2023). UHPLC-ToF-MS as a high-resolution tool for veterinary drug quantification in milk. *Separations*, 10(8), 457. <https://doi.org/10.3390/separations10080457>
- [53] Liu, C., Guo, Y., Wang, B., Chen, L., Xie, K., & Yang, C. (2021). Establishment and validation of a GC-MS/MS method for penicillin G residues in poultry eggs. *Foods*, 10(11), 2735. <https://doi.org/10.3390/foods10112735>

- [54] Liu, R., Tang, X., Xiong, R., Li, L., Du, X., & He, L. (2022). Simultaneous determination of fourteen  $\beta$ 2-agonist enantiomers in animal muscle by LC–MS/MS. *Journal of Chromatography B*, 1193, 123169. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2022.123169>
- [55] Mehl, A., Schmidt, L. J., & Morlock, G. E. (2021). High-throughput planar SPE coupled to Orbitrap HRMS for screening 66 antibiotic residues in food of animal origin. *Food Chemistry*, 351, 129211. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129211>
- [56] Monteiro, S. H., Lehotay, S. J., Sapozhnikova, Y., Ninga, E., & Lightfield, A. R. (2020). High-throughput mega-method for pesticides, veterinary drugs, and contaminants by UHPLC–MS/MS and LPGC–MS/MS: Part 1 Beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(10), 2874–2883. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00710>
- [57] Morello, S., Pederiva, S., Avolio, R., Amato, G., Zoppi, S., Di Blasio, A., Abete, M. C., Casalone, C., Desiato, R., Ru, G., & Marchis, D. (2021). Tetracyclines in processed animal proteins: Monitoring their occurrence and antimicrobial activity. *Foods*, 10(4), 696. <https://doi.org/10.3390/foods10040696>
- [58] Nowacka-Kozak, E., Gajda, A., & Gbylik-Sikorska, M. (2023). Analysis of aminoglycoside antibiotics: A challenge in food control. *Molecules*, 28(12), 4595. <https://doi.org/10.3390/molecules28124595>
- [59] Park, D., Kim, Y. R., Kim, J. Y., Choi, J. D., Moon, G., & Shin, D. W. (2025). Monitoring of veterinary drug residues in livestock products with antimicrobial resistance. *Applied Biological Chemistry*, 68, 42. <https://doi.org/10.1186/s13765-025-01001-0>
- [60] Pashaei, R., Dzingelevičienė, R., Abbasi, S., et al. (2022). Determination of 15 human pharmaceutical residues in fish and shrimp tissues by HPLC–MS/MS. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194, 325. <https://doi.org/10.1007/s10661-022-09993-8>
- [61] Sereshti, H., Karami, F., Nouri, N., & Farahani, A. (2020). Electrochemically controlled SPE based on polyaniline–graphene oxide nanocomposite for tetracyclines in milk and water. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(2), 733–742. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10851>
- [62] Song, X., Turiel, E., Yang, J., Martín-Esteban, A., & He, L. (2022). Determination of polypeptide antibiotics in animal tissues by LC–MS/MS with in-line molecularly imprinted SPE. *Journal of Chromatography A*, 1673, 463192. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463192>
- [63] Sun, C., Ma, Y., Yang, J., Lu, X., Wang, S., Zheng, X., Yang, Z., Xu, L., & Wang, B. (2025). Development and validation of QuEChERS–UHPLC–MS/MS for detection of nine macrolides in fish products. *Foods*, 14(16), 2768. <https://doi.org/10.3390/foods14162768>
- [64] Tang, H., Wang, Y., Li, S., Wu, J., Gao, Z., & Zhou, H. (2020). Development of magnetic SPE–LLE method for determination of four tetracyclines by HPLC–UV. *Journal of Food Science and Technology*, 57(6), 2134–2142. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04320-w>
- [65] Wang, B., Wang, Y., Xie, X., Diao, Z., Xie, K., Zhang, G., Zhang, T., & Dai, G. (2020). Quantitative analysis of spectinomycin and lincomycin in poultry eggs by ASE–GC–MS/MS. *Foods*, 9(5), 651. <https://doi.org/10.3390/foods9050651>
- [66] Wang, B., Zhu, Y., Liu, S., Zhang, H., Guan, T., Xu, X., Zheng, X., Yang, Z., Zhang, T., Zhang, G., & Xie, K. (2024). Quantitative analysis of erythromycin, clarithromycin, and metabolite in chicken tissues and eggs via QuEChERS–UHPLC–MS/MS. *Food Chemistry: X*, 22, 101468. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101468>
- [67] Wang, Y., Li, J., Ji, L., & Chen, L. (2022). Simultaneous determination of sulfonamide antibiotics in water and seafood using ultrasonic-assisted DLLME–HPLC. *Molecules*, 27(7), 2160. <https://doi.org/10.3390/molecules27072160>

- [68] Akter Mou, S., Islam, R., Shoeb, M., & Nahar, N. (2021). Determination of chloramphenicol in meat samples using LC–MS/MS. *Food Science & Nutrition*, 9(9), 5670–5675. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2530>
- [69] Xu, J., Hong, Y., Liu, Y., Liu, S., Gao, P., Guo, Y., Cao, Y., Ding, H., Pang, M., Zhang, T., Zhang, G., Guo, X., Xie, X., & Xie, K. (2025). Confirmation of enrofloxacin, ofloxacin, sarafloxacin and danofloxacin residues in poultry and pork via LLE–SPE–GC–MS/MS. *Food Chemistry: X*, 27, 102393. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102393>
- [70] Yang, Y., Li, X., Lin, J., & Bao, R. (2024). Modified QuEChERS–UPLC–MS/MS for rapid determination of antibiotics and sedatives in freshwater fish. *Food Chemistry: X*, 22, 101268. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101268>
- [71] Ye, M., Hou, L., Jiang, Z., Sun, X., Chen, L., & Fang, B. (2024). Cost-effective method for lincomycin in foods of animal origin using HPLC. *Molecules*, 29(13), 3054. <https://doi.org/10.3390/molecules29133054>
- [72] Zhu, Y., Jiang, X., Shen, D., Mao, J., Cao, Y., Zhang, K., Peng, J., Dong, F., Wang, N., & He, K. (2023). One-step SPE with UHPLC–MS/MS for determination of veterinary drugs in animal muscles. *Food Chemistry*, 428, 136712. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136712>
- [73] Zeng, Y., Yang, Q., Li, X., Zheng, Y., Zhang, Y., Chen, J., & Zhou, X. (2025). Simultaneous determination of 61 veterinary drug residues in food by LC–MS/MS with LPAS clean-up. *American Journal of Analytical Chemistry*, 16(4), 43–67. <https://doi.org/10.4236/ajac.2025.164004>
- [74] Zhang, Y., Shi, X., Wang, J., Liu, J., Wang, J., Li, H., & Wang, Y. (2021). Confirmation and quantification of antibiotic residues in goat milk and milk powder using UPLC–Orbitrap–MS. *Food Science & Nutrition*, 9(9), 5074–5087. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2684>
- [75] García-Peñalvo, F. J. (2022). Desarrollo de estados de la cuestión robustos: Revisiones sistemáticas de literatura. *Education in the Knowledge Society*, 23, e28600. <https://doi.org/10.14201/eks.28600>