

ESTUDIO DE CLEMBUTEROL EN HÍGADO DE RES POR HPLC

Minerva Juárez Juárez

Instituto Politécnico Nacional – U.P.I.B.I.
mjuarezju@ipn.mx

Pedro Miranda Reyes

Instituto Politécnico Nacional – U.P.I.B.I.
pmirandar@ipn.mx

Raquel Nava Alvarez

Instituto Politécnico Nacional – U.P.I.B.I.
rnavaa@ipn.mx

Abstract

Debido a las consecuencias que origina el consumo de carne con alto contenido de clenbuterol tales como: temblores, palpitaciones, taquicardias y vértigo, su uso se ha prohibido desde agosto de 1999 por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), por otro lado, se publicó la Norma Oficial Mexicana para controlar el uso de beta-agonistas, (NOM-015-ZOO-2002) en esta norma se prohíbe la comercialización y utilización de ingredientes activos (clenbuterol), para consumo y uso en animales; por lo anterior se genera la necesidad de analizar este alimento para asegurar que está libre de este anabólico. En este trabajo se lleva a cabo la extracción e identificación de clenbuterol en hígado de res, la identificación se lleva a cabo mediante la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución. Por otro lado, se realizó la extracción de clenbuterol del medicamento (Spiropent); el cual se analizó a las mismas condiciones que el extracto de la muestra. El estudio de clenbuterol por cromatografía de líquidos en hígado de res arrojó presencia del mismo en las muestras analizadas.

Palabras clave: Clenbuterol, HPLC, extracción, hígado de res.

El interés por producir carne en cantidades suficientes para cubrir la demanda de la población, ha creado la necesidad de utilizar promotores de crecimiento animal como son: aditivos antimicrobianos, drogas producidas por microorganismos, adición de antibióticos los cuales desarrollan la resistencia de los mismos por algunas bacterias, por lo cual se comenzó a desarrollar productos que no dejen residuos tóxicos en la carne, como productos probióticos, enzimas, levaduras y

acidificantes; siendo los más recientes los Agonistas beta adrenérgicos (ABA) como promotores de crecimiento y de calidad (Oscar, p. 1992).

Se ha comprobado que los promotores del crecimiento deben reunir las siguientes características: 1) ejercer una acción favorable sobre la flora intestinal. 2) no ser empleados con fines terapéuticos. 3) no ser absorbibles por el tracto intestinal. 4) no ser

tóxicos o peligrosos para el animal ni para el hombre en su papel como consumidor. 5) no dejar residuos en los tejidos.

De acuerdo con niveles funcionales, los ABA tienen intensa influencia sobre el metabolismo energético de carbohidratos, lípidos y proteínas en tejidos que están estrechamente relacionados con el músculo esquelético, incrementan la síntesis de proteína, reducen la grasa corporal. Los ABA se encuentran en drogas como: el isoproterenol, fenoteno, clenbuterol, cimaterol etc. de estos, el clenbuterol (bencilalcohol, 4 amino-R-(T-butilamino) metil-3-5-dicloro) fue originalmente desarrollado únicamente para el uso terapéutico de enfermedades bronquiales, como antiasmático, broncodilatador y agente mucolítico de aplicación humana y veterinaria para el tratamiento agudo o crónico de enfermedades obstructivas de los pulmones, años después se descubrió que son agentes repartidores eficientes, es decir, que promueven la reducción de la grasa corporal y mejoran el crecimiento en el ganado bovino, ovino, cerdos y pollos. En la producción de carne animal, los ABA funcionan como agentes repartidores, distribuyendo toda la energía en todo el organismo con un aumento en la síntesis de proteína. Para lograr este efecto es necesario usar dosis que sean de 5 a 10 veces más altas que la dosis terapéutica (0.8 µg/kg de peso corporal) dos veces al día por cinco días, el compuesto se encuentra en forma de clorhidrato de clenbuterol.

El uso de clenbuterol en cantidades adecuadas producen este efecto óptimo en la producción de carne, pero el problema se da cuando los ganaderos suministran esta droga en dosis muy elevadas lo que no permite al animal; absorberlo, metabolizarlo y por último desecharlo, este compuesto sintético,

$C_{12}H_{18}Cl_2N_2O$, tiene un peso molecular de 277.19 g / mol y su tiempo de vida media es de 33 horas, cada periodo de tiempo igual se elimina la mitad del mismo, por lo que se requiere de un tiempo de espera para que el animal pueda ser sacrificado (16 a 20 días) después de la última dosis suministrada, al no hacerlo se presentan casos de intoxicación humana con clenbuterol ya que no se permite que sea eliminado quedando en los órganos del animal, los cuales son consumidos por el ser humano con las consecuencias correspondientes.

Los efectos principales del clenbuterol en el organismo del ser humano dependiendo de las cantidades ingeridas van desde leves mareos hasta daños que pueden provocar la muerte.

Metodología

Las muestras de hígado de res, se obtuvieron en los siguientes mercados:

Mercado Progreso Nacional, ubicado en la colonia Progreso Nacional Delegación Gustavo A. Madero, Distrito Federal, mercado "La Villa", ubicado en la calle Jesús de Sumarraga s/n, Delegación Gustavo A. Madero, Distrito Federal, "Mi Mercado", ubicado en la colonia Barrio la Laguna Ticomán, Delegación Gustavo A. Madero, Distrito Federal.

El estudio de clenbuterol se lleva a cabo mediante un cromatógrafo de líquidos Varian Modelo 9010 con detector ultravioleta-visible de longitud de onda variable.

La extracción del clenbuterol se llevó a cabo mediante el siguiente procedimiento:

Las muestras se maceran con agua desionizada, posteriormente se adiciona

octanol para la eliminación de grasas; una vez obtenido el extracto se toma dos porciones a las cuales a una de ellas se le agrega acetonitrilo y a otra porción se agrega metanol, se colocan por separado en embudos de separación, se agita por 30 min y se deja reposar después de agitar; se separan las fases, el extracto obtenido de ambas fases orgánicas se seca al vacío; una vez obtenidos el compuesto seco se procede a su análisis por cromatografía de líquidos fig.1, bajo las siguientes condiciones de operación:

- Flujo: 0.5mL/min
- Fase móvil: acetonitrilo
- $\lambda = 244$ nm
- P= 50 atm
- Columna: C-18 fase reversa, 25cm de longitud.

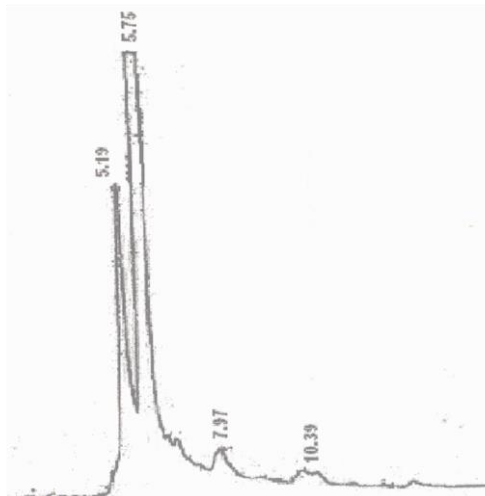


Fig.1 Cromatograma del extracto de clenbuterol en hígado de res.

Para corroborar la presencia de clenbuterol contenido en el hígado a las muestras se les inyectó cierta cantidad del clorhidrato de clenbuterol obtenido del medicamento (fig. 2 y 3) y se les realizó el procedimiento de extracción mencionado anteriormente (C. Crescenzi, 2001) .

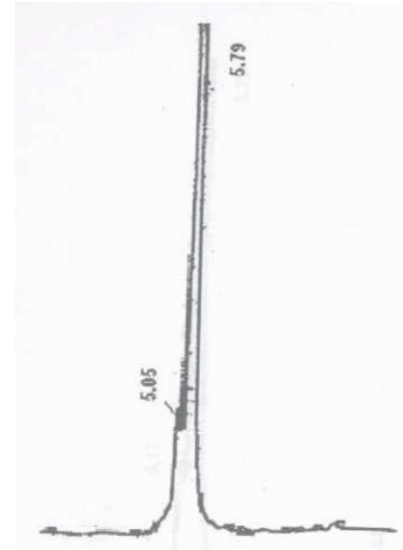


Fig.2 Cromatograma del extracto de clenbuterol en hígado de res con estándar de clorhidrato de clenbuterol (spiropent).

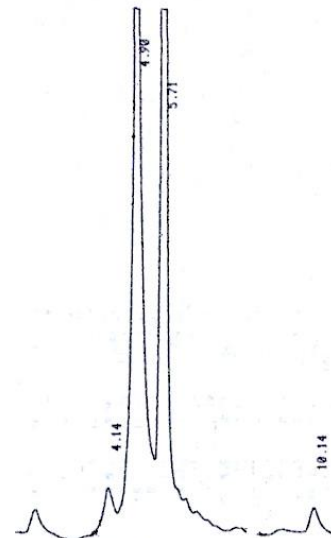


Fig.3 Cromatograma del extracto de clenbuterol en hígado de res

Resultados

El análisis de clenbuterol por HPLC llevado a cabo en las muestras de hígado arroja presencia de clenbuterol, ya que el tiempo de retención de la muestra control tratado con estándar de clorhidrato de clenbuterol (Spiropent) es de 5.79 min y los extractos de las muestras de hígado presentan tiempos de retención entre 5.79 min y 5.68 min empleando acetonitrilo como disolvente de extracción. Una vez que se tiene la técnica de extracción adecuada, se recomienda llevar a cabo el análisis cuantitativo de clenbuterol en las muestras de hígado, llevando a cabo la construcción de una curva de calibración con el extracto de clorhidrato de clenbuterol (spiropent).

Conclusiones

La técnica de extracción empleada es adecuada para el tratamiento de la muestra de hígado de res, ya que los tiempos de retención obtenidos son reproducibles en el análisis por cromatografía de líquidos.

La cromatografía de líquidos es una técnica muy sensible, que nos ayuda a determinar cualitativamente al clorhidrato de clenbuterol.

Debido a que el clenbuterol es una sustancia prohibida por la Secretaría de Agricultura, Ganadería Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), como promotor de crecimiento en alimento para animales, es importante monitorear esta sustancia por lo que se recomienda se lleve a cabo un estudio de los procedimientos de alimentación del ganado, así como, llevar a cabo el muestreo y análisis de pelo, hígado y ojo, ya que en estos órganos es donde se acumula en mayor cantidad el clenbuterol.

Por lo que, se recomienda implementar y mantener programas de vigilancia en el uso y control clenbuterol en la producción animal, ya que pese a que está prohibido su uso se sigue manejando.

Por otro lado, se recomienda llevar a cabo la cuantificación del clenbuterol en hígado de res, ya que niveles altos de este en el hígado puede causar en el ser humano, náuseas, tos e irritación de garganta, en dosis más elevadas puede producir elevación de presión o paro cardíaco. El clenbuterol tiene una toxicidad aguda de moderada a alta; la DL50 es de 80-180 mg/kg, la administración de dosis mayores de 40 microgramos (mcg) desencadena la sintomatología antes mencionada (Salud, 2012)

Referencias

1. C. Crescenzi, S. B. (2001). Determination of clenbuterol in bovine liver by combining matrix solid-phase dispersion and molecularly imprinted solid-phase, extraction followed by liquid chromatography/electrospray ion trap multiple-stage mass spectrometry. *Analytical Chemistry Science*, 2171-2177.
2. Oscar, A. S. (s.f.). Efecto de un agonista beta adrenérgico en la alimentación de pollos de engorda.
3. Salud, S. d. (Septiembre de 2012). Manual de Procedimientos Estandarizados para la vigilancia epidemiológica de la Intoxicación alimentaria asociada al consumo de carne contaminada con clenbuterol. *Dirección General de Epidemiología*, 46. México, D.F, México.