



Evaluación de la presencia de residuos de clenbuterol en muestras de productos cárnicos dentro del Estado de Morelos

Adriana Valladares-Méndez,¹ Aarón Valencia-García,² Sergio Alcalá-Alcalá,³ Luis M. Orozco-Castellanos,⁴ Julio C. Rivera-Leyva^{5*}

¹⁻⁵ Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos

1. vameadri@hotmail.com, 2. aaronvalff@gmail.com, 3. sergio.alcala@uaem.mx, 4. orozcoz@ugto.mx,

5*. julio.rivera@uaem.mx

Cite este artículo así:

APA: Valladares-Méndez, A. Valencia-García, A. Alcalá-Alcalá, S. Orozco-Castellanos, L. Rivera-Leyva, J. (2023). Evaluación de la presencia de residuos de clenbuterol en muestras de productos cárnicos dentro del Estado de Morelos. *Quimiofilia*, 2, (2) 1-12.

ACS: Valladares-Méndez, A. Valencia-García, A. Alcalá-Alcalá, S. Orozco-Castellanos, L. Rivera-Leyva, J. *Quimiofilia*, 2023, 2, 1-12.

DOI: <https://doi.org/10.56604/qfla202322112>

Recibido: junio 26, 2023

Aceptado: septiembre 27, 2023

Publicado: noviembre 28, 2023

www.quimiofilia.com ISSN: 2683-2364 Registro IMPI: 2052060

QUIMIOFILIA Reserva de derechos al uso exclusivo 2022: 04-2019-062013201300-203.

permite la comparación con los límites máximos para residuos (LRM) de clenbuterol en músculo e hígado establecido por la FAO. Se recolectaron y analizaron 88 muestras de músculo (pierna) y 18 de hígado de res en mercados municipales, carnicerías y tiendas de auto servicio de la localidad, dividida en cinco zonas: centro, norte, sur, este y oeste. Se encontraron residuos de clenbuterol en 49% de las muestras analizadas, cuyas cantidades encontradas sobrepasan el límite máximo recomendado (LMR) por el Codex Alimentarius de la FAO. El valor promedio general de clenbuterol en las muestras cuantificables de músculo, fue de 14.23 ± 13.64 µg/kg con valores que oscilan entre 3.06 y 52.4 µg/kg y para las muestras de hígado de 34.76 ± 16.54 µg/kg, cuyos valores encontrados se encuentran entre 3.46 y 79.7 µg/kg.

Resumen

El clenbuterol es un agonista del grupo β-adrenérgico que suele utilizarse en el sector ganadero. Por las ventajas que tiene como agente anabólico, ya que influye en la mejora de la producción de carnes y por ende, en la venta de la misma. Sin embargo, ha causado intoxicaciones en la población que la consume, provocando temblores musculares, palpitaciones, taquicardia, nerviosismo, dolor de cabeza, hasta mialgia. En México, se han emitido normas, como la NOM-EM-015-2002, que prohíben el uso del clenbuterol en la alimentación del ganado. El objetivo de este trabajo fue analizar muestras de productos cárnicos de bovino, músculo e hígado, obtenidas en zonas del área de Cuernavaca, en el Estado de Morelos. Se desarrolló y validó el método de extracción y cuantificación de clenbuterol por cromatografía de líquidos con detector ultravioleta-visible, siendo lineal, preciso y exacto; el límite de detección fue de 5.025 µg/mL, mientras que el de cuantificación fue de y 15.23 µg/mL, equivaliendo a 1.005 y 3.046 µg/kg respectivamente, lo que

Palabras Clave: clenbuterol, cromatografía de líquidos, contaminantes alimenticios, β-adrenérgicos.

La carne constituye una importante fuente de proteínas alimentarias de gran calidad para una amplia proporción de la población mundial. En particular, la carne roja contribuye a la adquisición de diversos micronutrientes como hierro, zinc, selenio, vitamina D y vitamina B12. En muchos países en desarrollo, la carne suele proteger de la malnutrición y mejorar el desarrollo cognitivo de los niños.¹ De acuerdo con el Fondo de Población de la Naciones Unidas,² la población en México superó los 132 millones de habitantes siendo uno de los 10 países más habitados del mundo, con una demanda de alimento en crecimiento.

1. Salter, A.M. The effects of meat consumption on global health: -EN- -FR- Les effets de la consommation de viande sur la santé dans le monde -ES- Efectos del consumo de carne en la salud mundial. *Rev. Sci. Tech. OIE*. 2018, 37(1), 47-55. <https://doi.org/10.20506/rst.37.1.2739>

2. Nations United. ¿Qué va a pasar cuando la población mundial pronto alcance los 8.000 millones? | Naciones Unidas [Internet]. United Nations. United Nations;

2022 [citado 25 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.un.org/es/cr/c3/B3nica-onu/global-population-will-soon-reach-8-billion%E2%80%9494then-what>.



De las diferentes especies animales que se utilizan para consumo humano, las más consumidas son las de aves de granja, bovino y porcino, para los cuales México ocupa uno de los primeros lugares en el consumo per cápita, alcanzando la séptima posición a nivel mundial en lo que a carne de bovino se refiere.³ La Industria Nacional de la Carne genera miles de millones de pesos al año, y entre 2017 a 2018 generó hasta el 2% del producto interno bruto del país.⁴ Tradicionalmente se comercializa en carnicerías, tiendas de autoservicio y mercados municipales.³

Dentro de la práctica ganadera es común administrar promotores de crecimiento a los animales para consumo, entre los que se encuentran los agonistas β -adrenérgicos. Estos aditivos alimentarios incrementan la masa muscular, mejoran la tasa de crecimiento y aumentan la eficacia de la alimentación del ganado.⁵ Algunos agonistas como el zilpaterol y la ractopamina están aprobados por la Food and Drug Administration de los E.U.A. (FDA),⁶ y se comercializan desde 1999 y 2003 respectivamente. En México, estos compuestos aparecen en la lista de β -agonistas prohibidos en la norma NOM-EM-015-2002, para su producción, comercialización, importación, suministro y/o utilización como ingredientes activos, aditivos, alimenticios y/o medicamentos en formulación de productos alimenticios destinados para consumo y uso en animales.⁷ La misma norma refiere que pueden estar exentos de tal prohibición si cuentan con registro y autorización, ya que la utilización de este tipo de sustancias debe garantizar la inocuidad de los productos pecuarios y la seguridad de la alimentación de todos los consumidores.^{8,9} En México uno de los agonistas β -adrenérgicos más utilizado es el clorhidrato de clenbuterol (Figura 1b), a pesar de estar prohibido; lo que ha propiciado intoxicaciones

masivas en los consumidores, y ha conducido a un grave problema en salud pública.¹⁰

Se han registrado diversos casos de intoxicación por clenbuterol documentados al consumir hígado de bovino y otros tejidos a lo largo del tiempo y en diversas partes del mundo, como en España (1988, 1990) y en Francia (1990), donde 135 personas fueron afectadas.¹¹ En la década de 2010 a 2020, se diagnosticaron intoxicaciones en Eslovenia (2017),¹² en el Reino Unido (2020),¹³ en China (2010 y 2014),^{14,15} y en Alemania (2019),^{16,17} los cuales están muy ligados al ambiente de los deportistas, atletas y fisicoculturistas. Cabe mencionar que se ha reportado también casos de intoxicación en alimentos populares a base de carne de bovino.¹⁷

En México, también se han presentado casos de intoxicación por este β -agonista, por lo que se fortaleció la vigilancia epidemiológica de la intoxicación alimentaria por clenbuterol. El promedio anual de casos notificados hasta el 2011 fue de 220. En el año 2007, se notificaron 555 casos, con una incidencia de 0.53 casos por cada 100,000 habitantes y en el 2011 se notificaron 110 casos, con una tasa de incidencia de 0.10 casos por 100,000 habitantes; representando una reducción del 81% en la incidencia.¹⁸

En 2011, se presentaron casos de intoxicación por clenbuterol en varios estados, entre ellos Aguascalientes, Distrito Federal, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Querétaro, Veracruz y Zacatecas. Los que presentaron la mayor tasa de incidencia en el mismo año fueron: Aguascalientes (2.47 casos por cada 100,000 habitantes), Querétaro (0.95), Guanajuato (0.43), Zacatecas (0.36) y Jalisco (0.28 casos por 100,000 habitantes).¹⁹ Los casos reportados en nuestro país son continuos y se presentan en diferentes regiones. En 2019 se reportaron dos casos en la Ciudad de México por consumo de hígado de res, y en Yucatán

3. Consejo Mexicano de la Carne. Compendio Estadístico 2018 [Internet]. 2018 [citado 22 de junio de 2023]. Disponible en: <https://comecarne.org/wp-content/uploads/2019/04/Compendio-Estadistico-2018-VF.pdf>.
4. Consejo Mexicano de la Carne. Compendio Estadístico 2021 [Internet]. [citado 26 de junio de 2023]. Disponible en: <https://comecarne.org/compendio-estadistico-2021/>
5. Brown, D.; Ryan, K.; Daniel, Z.; Mareko, M.; Talbot, R.; Moreton, J.; et al. The Beta-adrenergic agonist, Ractopamine, increases skeletal muscle expression of Asparagine Synthetase as part of an integrated stress response gene program. *Sci. Rep.* **2018**, *8*(1), 15915. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-34315-9>
6. FDA. CFR - Code of Federal Regulations Title 21 [Internet]. 2019 [citado 25 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.access-data.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfrcfr/CFRSearch.cfm?fr=558.665>
7. Secretaría de Agricultura, Ganadería, y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. NOM-EM-015-ZOO-2002 NORMA OFICIAL MEXICANA DE EMERGENCIA, ESPECIFICACIONES TÉCNICAS PARA EL CONTROL DEL USO DE BETAAGONISTAS EN LOS ANIMALES [Citado 18 de agosto de 2023]. 2002. Disponible en: <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/zoo/zoo015em-02.pdf>
8. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. NORMA Oficial Mexicana NOM-061-ZOO-1999 [Internet]. 2000 [citado 25 de mayo de 2023]. Disponible en: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=2061633&fecha=11/10/2000#gsc.tab=0
9. Jiménez-Servín-de-la-Mora, L.A.; Garza-Ramos, J.; Sumano-López, H.; Frago-Sánchez, H. Vigilancia sanitaria en el uso ilícito del clenbuterol y su coordinación intersectorial en dos entidades de México. *Vet. México OA.* **2011**, *42*(1), 11-25. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922011000100002&lng=es&tlng=es.
10. Valladares-Carranza, B.; Bañuelos-Valenzuela, R.; Peña-Betancourt, S.D.; Velázquez-Ordóñez, V.; Echavarría-Cháirez, F.G.; Muro-Reyes, A. et al. Riesgos a

- la salud por el uso de clorhidrato de clenbuterol: una revisión. *Rev. Med. Vet.* **2015**, (30), 139. <http://dx.doi.org/10.19052/mv.3618>
11. Torres-Castro, M.A.; Torres-Castro, R.A. El clenbuterol y el riesgo para la salud pública. *Bioagrobiencias*, **2023**, *16*(1), 1-9. <http://dx.doi.org/10.56369/bac.4658>
12. Žlak, N.; Košuta, D.; Potisek, M.; Stevanović, Ž. Clenbuterol toxicity in a young male athlete. *Toxin Rev.* **2018**, *37*(3), 182-6. <http://dx.doi.org/10.1080/15569543.2017.1348361>
13. Moriarty, N.; Attar, N. Clenbuterol-Induced Myocarditis: A Case Report. *Eur. J. Case Rep. Intern. Med.* **2020**, *7*(9). http://dx.doi.org/10.12890/2020_001662
14. Guddat, S.; Fußhöller, G.; Geyer, H.; Thomas, A.; Braun, H.; Haenelt, N.; et al. Clenbuterol - regional food contamination a possible source for inadvertent doping in sports. *Drug Test. Anal.* **2012**, *4*(6), 534-8. <http://dx.doi.org/10.1002/dta.1330>
15. Yan, H.; Xu, D.; Meng, H.; Shi, L.; Li, L. Food poisoning by clenbuterol in China. *Qual. Assur. Saf. Crops. Foods.* **2015**, *7*(1), 27-35. <http://dx.doi.org/10.3920/qas2014.x006>
16. Lehmann, S.; Thomas, A.; Schiwy-Bochat, K.H.; Geyer, H.; Thevis, M.; Glenewinkel, F. et al. Death after misuse of anabolic substances (clenbuterol, stanozolol and metandienone). *Forensic. Sci. Int.* **2019**, *303*, 109925. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.109925>
17. Dufayet, L.; Gorgiard, C.; Vayssette, F.; Barbet, J.; Hoizey, G.; Ludes B. Death of an apprentice bodybuilder following 2,4-dinitrophenol and clenbuterol intake. *Int. J. Legal. Med.* **2020**, *134*(3), 1003-6. <http://dx.doi.org/10.1007/s00414-020-02268-2>
18. Secretaría de Salud. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica 2013-2018. *Programa Sect. Salud.* **2018**, 1-90. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/211946/PAE_2013-2018.pdf (citado el 18 de septiembre de 2023).



en el año 2022 se reportó un brote de intoxicación alimentaria en 500 personas,^{11,19} la cual se relacionó principalmente con el consumo de carne o de vísceras de bovino. Es importante mencionar que la información relacionada con diversos casos de intoxicación es escasa, encontrándose principalmente en publicaciones de divulgación regional.^{20,21,22,23}

Entre los síntomas presentados por intoxicación con clenbuterol se encuentran: aparición brusca de temblores musculares, palpitaciones, taquicardia, nerviosismo, cefaleas y mialgias.²⁴

El clenbuterol, (*R,S*)-1-(4-amino-3,5-dicloro-fenil)-2-(*tert*-butilamino)-etanol (Figura 1), es un polvo blanco, anhidro, con un peso molecular de 277.189 g/mol y 313.6 g/mol en su forma de sal (clorhidrato). Es muy soluble en agua, tiene un *p*_ka de 9.72, es altamente estable a temperatura ambiente, con un punto de fusión de 174-175.5 °C y un log *P* de 2.91.²⁵ Es un aditivo sintético que pertenece a una clase de medicamentos que son fisiológicamente análogos a la adrenalina. Su estructura química, relacionada a las catecolaminas, es capaz de interactuar con receptores adrenérgicos, generalmente del tipo β₂. Posee una vida media de acción prolongada, ya que su tiempo de vida media (*t*_{1/2}) es de 35 horas,²⁶ con la particularidad de poder almacenarse en hígado, riñón y músculo entre otros.²⁷

La absorción del clenbuterol administrado por vía oral alcanza niveles máximos plasmáticos entre la segunda y tercera hora, por vía subcutánea o intramuscular es más rápida, alcanzándose las máximas concentraciones dentro de los 15-30 minutos después del consumo.^{26, 28}

Se distribuye en casi todos los tejidos debido a la ubicación de los β- adrenoreceptores. En ganado bovino los mayores niveles de residuos de clenbuterol se encuentran en el ojo, hígado, riñones, y pulmones; mientras que en el músculo y la grasa se presentan los niveles más bajos.²⁸

En el ganado bovino y en caballos se han identificado diferentes metabolitos de clenbuterol; sin embargo, el principal residuo identificado en estas especies ha sido el compuesto inalterado en orina e hígado; se han identificado pequeñas cantidades de ácido 4-amino-3,5-diclorobenzoico y ácido 4-amino- 3,5-diclorohipúrico,²⁹ algunos óxidos y conjugados con otras estructuras también.²⁷

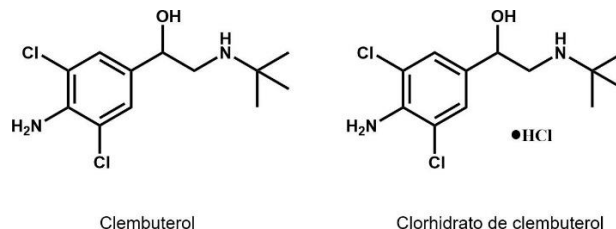


Figura 1: a) Estructuras químicas del clenbuterol y b) clorhidrato de clenbuterol.

Este compuesto se ha utilizado en humanos como fármaco broncodilatador para el tratamiento del asma bajo supervisión y prescripción médica, la dosis es de 10, 20 y hasta 40 µg/adulto al día. En fisicoculturismo es utilizado por su efecto anabólico. En medicina veterinaria se usa como broncodilatador principalmente en bovinos y equinos a una dosis de 240 a 320 µg/día.^{26,28,29}

El Comité Mixto de la FAO/OMS (1998), propuso el índice de la Ingesta Diaria Admisible (IDA) en 0.004 µg de clenbuterol/kg de peso vivo/día. El Codex Alimentarius del comité mixto FAO/OMS y la Norma Oficial Mexicana establecen un Límite Máximo de Residuos (LRM) de 0.2 µg/kg para músculo de res y 0.6 µg/kg para hígado de res.³⁰ Estos límites no han tenido

19. Ezquerro Osorio, A.; Bueno Arias, G.M.; Torres González, K.S.; Arias Marín, R.; Ramírez García, J.E. Intoxicación alimentaria por clenbuterol, padecimiento subdiagnosticado. *Acta médica Grupo Ángeles*, **2019**, 17(4), 406-408. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-72032019000400406&lng=es&tlng=es.

20. Alerta SSM sobre síntomas por consumir carne contaminada con clenbuterol. (2020, agosto 21). Secretaría de Salud. Última vez consultada 18 de septiembre de 2023; <https://salud.morelos.gob.mx/noticias/alerta-ssm-sobre-sintomas-por-consumir-carne-contaminada-con-clenbuterol>

21. Chaldrón, J. (2022, octubre 15). Intoxicación por carne con clenbuterol en Chiapas enciende alertas de importaciones impulsadas por AMLO. *Publimetro México*. última vez consultada 18 de septiembre de 2023; <https://www.publimetro.com.mx/noticias/2022/10/15/chiapas-intoxicacion-por-carne-con-clenbuterol-enciende-alerta-de-importaciones-impulsadas-por-amlo/>

22. ¿Qué es el clenbuterol y por qué pudo intoxicar a 500 personas que comieron cochinita pibil? (2022, junio 14). *El Financiero*. Última vez consultada 18 de septiembre de 2023 <https://www.elfinanciero.com.mx/food-and-drink/2022/06/14/que-es-el-clenbuterol-y-por-que-pudo-intoxicar-a-500-personas-que-comieron-cochinita-pibil/>

23. Gob.mx. Recuperado el 6 de agosto de 2023, de <https://salud.michoacan.gob.mx/vigila-ssm-que-carne-este-libre-de-clenbuterol/>

24. Escobar, A.; Morales-Trejo, F.; León, S.; Escobar-Medina, I. A.; Pérez-González, J.J.; Urbán-Carrillo, G. et al. Desarrollo y validación del método de cromatografía líquida de alta resolución para la determinación y cuantificación de clenbuterol en hígado de bovino. *Rev. Salud Anim.* **2013**, 35(1), 38-44. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2013000100006&lng=es&tlng=es.

25. Bazylak, G.; Nagels, L.J. Simultaneous high-throughput determination of clenbuterol, ambroxol and bromhexine in pharmaceutical formulations by HPLC with potentiometric detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2003**, 32(4-5), 887-903. [http://dx.doi.org/10.1016/S0731-7085\(03\)00191-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0731-7085(03)00191-2)

26. Yamamoto, I.; Iwata, K.; Nakashima, M. Pharmacokinetics of plasma and urine clenbuterol in man, rat and rabbit. *J. Pharmacobio-Dyn.* **1985**, 8, 385-91. <http://dx.doi.org/10.1248/bpb1978.8.385>

27. Heitzman, R.J. *Veterinary Drug Residues. Residues in food producing animals and their products: Reference Material and Methods* [Internet]. Second Edition. Vol. 1. Commission of the European Communities; 1994. Disponible en: <http://aei.pitt.edu/44343/>

28. Sumano, H.; Ocampo, L.; Gutierrez, L. Clenbuterol y otros beta-agonistas, ¿una opción para la producción pecuaria o un riesgo para la salud pública? *Vet. México*. **2002**, 33(2), 137-159. <https://www.medigraphics.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=5766>

29. Zalko, D.; Perdu-Durand, E.; Debrauwer, L.; Bec-Ferte, M.P.; Tulliez, J. Comparative Metabolism of Clenbuterol by Rat and Bovine Liver Microsomes and Slices. *Drug. Metab. Dispos.* **1998**, 26(1), 28-35. <https://dmd.aspetjournals.org/content/26/1/28.long>. Último acceso en 18 de agosto 2023

30. Organización Mundial de la Salud. CODEX ALIMENTARIUS: Límites Máximos de Residuos (LMR) y recomendaciones sobre la Gestión de riesgos (RGR) para residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos. En 2021. p. 1-51. Disponible en: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/fr/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXM%2B2%252FMRL2s.pdf>; Último acceso el 18 de septiembre de 2023



modificaciones en los 30 años, como se puede verificar en otras referencias internacionales.^{31,32}

En Europa y Estados Unidos, las leyes han limitado el uso de los aditivos β -agonistas en el alimento de los animales de importancia económica, llegando a catalogarse como delitos contra la salud en la Unión Europea.³³

En México, la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), y el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), llevan a cabo actividades referentes a la inocuidad de los productos cárnicos conforme a su ámbito de regulación. Es importante indicar que la Norma Oficial Mexicana NOM-061-ZOO-1999 prohíbe estrictamente el uso de clenbuterol.⁸

Por otro lado, los métodos analíticos autorizados para la detección y cuantificación de clenbuterol en tejidos cárnicos son el ensayo inmuno-enzimático, la cromatografía de gases y la cromatografía de líquidos. Esta última técnica permite detectar niveles de clenbuterol en el orden de 0.9 y 1.8 ng/mL²⁰ y utilizando el detector de masas ha sido posible detectar la presencia de clenbuterol en varias matrices como orina, suero, plasma, hígado, pelo y retina, con límites de detección de 0.01 a 0.5 ng.^{34,35}

Es así que en este trabajo se propone la evaluación de la presencia de residuos de clenbuterol en muestras de productos cárnicos en la ciudad de Cuernavaca en el Estado de Morelos, mediante el análisis de hígado y músculo bovino, adquiridos en tianguis, carnicerías y centros comerciales de la zona morelense en un estudio transversal durante los meses de junio a agosto de 2019.

Materiales y Reactivos

Reactivos. El clorhidrato de clenbuterol (Sustancia de referencia) se adquirió de Sigma Aldrich México (lote BCBQ2163V), el metanol y acetonitrilo fueron grado HPLC (Fermont, México), las sales de fosfato de sodio monohidratado (Lote 738103), el sulfato de sodio anhidro (lote 749405) y el cloruro de sodio (lote 724362) fueron grado reactivo de marca Fermont (Fermont, México).

Condiciones cromatográficas. Se utilizó un sistema cromatográfico Hitachi Lachrom Elite L-2000, integrado con una bomba de gradiente L-2135, inyector automático L-2200, horno de temperatura L-2300, y un detector ultravioleta-visible L-2400. Se utilizó una columna Luna Phenomenex, de 4.6 X 150 mm, 3 μ m con poro de 100 Å. La velocidad de flujo fue de 1 mL/min, con volumen de inyección de 50 μ L y una longitud de onda de detección a

210 nm. La fase móvil consistió en acetonitrilo/buffer de fosfatos 0.05 M pH 3.0 ajustado con ácido fosfórico (18:82).

Solución stock de clenbuterol (10 μ g/mL). Se preparó una solución de clorhidrato de clenbuterol con una mezcla agua/metanol (80:20) hasta una concentración final de 10 μ g/mL.

Solución de pirfenidona (estándar interno) 10 μ g/mL. La cuantificación de clenbuterol se realizó utilizando la técnica de estándar interno que requiere que cada solución de la curva y cada muestra analizada contengan una concentración constante de dicho estándar. Se preparó una solución de pirfenidona (estándar interno) de 10 μ g/mL en una mezcla metanol/agua (80:20). De esta solución se adicionó una alícuota apropiada a cada solución de la curva de cuantificación y a cada muestra para obtener una concentración final de 3 μ g/mL.

Curva de cuantificación de clenbuterol. Se preparó un homogeneizado de hígado o músculo de res libre de clenbuterol, con 5 g de este tejido y 13 mL de acetonitrilo, el cual se utilizó como matriz para la preparación de las soluciones de la curva de cuantificación de clenbuterol. Se diluyeron alícuotas de la solución de trabajo de clenbuterol (10 μ g/mL) con el homogeneizado de hígado para obtener concentraciones de 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 3000 y 5000 ng/mL de clenbuterol. Previo al aforo, se adicionó el estándar interno a cada solución. Se construyó la curva de cuantificación graficando la relación de alturas vs la concentración nominal de clenbuterol.

Extracción de las muestras. Se pesaron 5 g de hígado o músculo de res, a los que previamente se evaluó y se determinó la ausencia total de residuos de clenbuterol; se maceraron y homogeneizaron con 13 mL de acetonitrilo grado HPLC, la mezcla se traspasó a un tubo cónico de 50 mL, se adicionó 1 g de NaCl y 4 g de Na₂SO₄ anhidro agitando después de cada adición durante 2 minutos, la mezcla se centrifugó por 10 minutos a 10,000 rpm y temperatura de 4 °C, se separó la parte líquida y se evaporó a sequedad con temperatura controlada de 45 °C, con arrastre de nitrógeno, el residuo se reconstituyó con 1 mL de fase móvil y se filtró por membrana de 0.45 μ m para su posterior análisis por Cromatografía de Líquidos.

Validación del método de cuantificación

Se evaluó la adecuabilidad del sistema cromatográfico, mediante el coeficiente de variación (CV%) de la repetibilidad de la inyección y del tiempo de retención correspondientes a una serie de

31. Food and Agriculture Organizations of the United Nations-World Health Organizations, Codex Alimentarius Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods. FAO-CX/MRL 2-2018. Último acceso 18 de septiembre de 2023; <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/maximum-residue-limits/en/>

32. Velasco-Bejarano, B.; Velasco-Carrillo, R.; Camacho-Frias, E.; Bautista, J.; López-Arellano, R.; Rodríguez, L. Detection of clenbuterol residues in beef sausages and its enantiomeric analysis using UHPLC-MS/MS: A risk of unintentional doping in sport field. *Drug Testing and Analysis*, 2022, 14(6), 1130–1139. <https://doi.org/10.1002/dta.3235>

33. CONSEJO DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS., Directiva CE 86/469/CEE: DIRECTIVA DEL CONSEJO de 16 de septiembre de 1986

relativa a la investigación de residuos en los animales y en las carnes frescas. 1986. Último acceso 18 de septiembre de 2023; disponible en <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-1988-81861>

34. Olaya Fernández, E.; Osorio, G.A.; Maximino, H. *UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO*. Edu.mx. Recuperado el 6 de agosto de 2023, de <https://repositorio.chapingo.edu.mx/server/api/core/bitstreams/d570c0ca-8e9b-4719-93d8-d4ec339c072f/content>

35. International Council for Harmonization. ICH guideline Q2(R2) on validation of analytical procedures: Requirements for pharmaceutical for human use [Internet]. INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION; 2022. Último acceso el 18 de septiembre de 2023; Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf



inyecciones de una solución conteniendo 2 µg/mL de clembuterol (n=6).

Para la validación del método propuesto se evaluaron los siguientes parámetros: selectividad, linealidad, precisión, exactitud, y los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) siguiendo algunas de las recomendaciones de la Guía ICH Q2 (r1).³⁵ Para la preparación de curvas de cuantificación y los puntos control se utilizó como matriz el tejido de musculo o hígado de res completamente libre de residuos de clembuterol, adquirida en un supermercado de la localidad. La ausencia de residuos de clembuterol se aseguró mediante el análisis cromatográfico y la comparación de muestras adicionadas con el analito bajo estudio.

Selectividad. La selectividad del método se estimó mediante la comparación de cromatogramas de inyecciones de plasma blanco (sin clembuterol), muestras de músculo o hígado de res conteniendo varias concentraciones de clembuterol y del estándar interno (pirfenidona) en solución y muestras de plasma con clembuterol y estándar interno adicionado. Se considera que el método es selectivo si no se encuentra ninguna interferencia o señal distinta a las generadas por el clembuterol y el estándar interno en los correspondientes tiempos de retención.

Linealidad. La linealidad y rango del método se evaluó mediante el análisis de 3 curvas de calibración por día, durante 2 días.

El recobro analítico (% de recobro) se evaluó a 3 niveles (alto, medio y bajo) por triplicado comparando la cantidad recuperada de clembuterol a partir de las soluciones control en homogeneizado de hígado y soluciones de clembuterol en fase móvil. Se considera el método lineal si el valor de $r \geq 0.99$.

Precisión. La precisión del método fue determinada en términos de la repetibilidad y reproducibilidad (precisión intermedia). La repetibilidad se determinó con el CV% de muestras control a 3 niveles (alto, medio y bajo) (n=5) durante 2 días, mientras que la precisión intermedia se determinó con el CV% del total de muestras evaluadas en 2 días (n=10).

Exactitud. La exactitud se evaluó por medio del % de recobro absoluto (eficiencia de la extracción del método), comparando la concentración recuperada con la concentración nominal de las muestras control en solución a 3 niveles (alto, medio y bajo) como indica la ecuación 1, y la Desviación Estándar Absoluta (DEA), (Ecuación 2). Los valores de especificación fueron $100.0 \pm 15.0\%$ y 5.0% máximo respectivamente.

$$\% \text{ Recobro} = \frac{\text{Concentración recuperada}}{\text{Concentración nominal}} \dots\dots\dots \text{Ecuación 1}$$

$$\text{DEA} = |100 - \% \text{ recobro}| \dots\dots\dots \text{Ecuación 2}$$

Límite de detección y cuantificación. Los LD y LC fueron calculados con base a la relación señal/ruido obtenido de las curvas de linealidad, conforme a las ecuaciones 3 y 4 respectivamente.

$$\text{LD} = 3.3 \frac{S_b}{m_{prom}} \dots\dots\dots \text{Ecuación 3}$$

$$\text{LC} = 10 \frac{S_b}{m_{prom}} \dots\dots\dots \text{Ecuación 4}$$

Donde:

S_b : Desviación Estándar del intercepto de las curvas de linealidad

m_{prom} : Promedio de la pendiente de las curvas de linealidad

Con el propósito de homologar la cantidad de clembuterol en las muestras analizadas al Límite Máximo de Residuos (LRM) indicado por la FAO, se transformó la concentración de clembuterol de las muestras analizadas (µg/mL) a µg/kg con la siguiente relación:

$$\text{Clembuterol en tejido} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}} \right) = C * \frac{V}{M} \dots\dots\dots \text{Ecuación 5}$$

Donde

C: Concentración de clembuterol cuantificada en la muestra (µg/mL)

V: Volumen de muestra analizada (1 mL)

M: Peso de la muestra de tejido tratada expresada en kg (5 g)

Recolección de las muestras

Para el presente estudio se utilizó el método de muestreo por conglomerados (clusters), analizando 2 tipos de tejidos (músculo e hígado de res), y tomando 3 tipos de puntos de recolección; carnicerías, mercados municipales y tiendas de autoservicio. La división de los conglomerados se realizó por zonas dividiendo el mapa de Cuernavaca en 5 zonas: centro, norte, sur, este y oeste.

El tamaño de la muestra se definió utilizando la fórmula de tamaño de muestra para una muestra finita para cada conglomerado (Ecuación 5) basado en la probabilidad de encontrar una muestra contaminada con clembuterol, considerando los antecedentes de estudios similares realizados en otros estados de la República Mexicana.

$$n = \frac{s^2 N p q}{d^2 (N-1) + z^2 p q} \dots\dots\dots \text{Ecuación 6}$$

Donde:

p = Proporción que presenta el fenómeno de estudio.

q = Proporción que no presenta fenómeno de estudio.

N = Tamaño de la población.

z = Nivel de confianza.

d = Nivel de precisión.

El número de muestras a recolectar (N) en cada zona se obtuvo de la probabilidad de ocurrencia conforme a la información reportada para Sonora, Jalisco, Ciudad de México (antes Distrito Federal), Guerrero y el Estado de México del año 2007 al año 2011, con un promedio general de 51.6% para las muestras contaminadas con clembuterol, por lo que se decidió utilizar un 50% de



probabilidad con un nivel de confianza del 95% y un índice de error de 0.05.19

Resultados y discusión

El método analítico para la cuantificación de clenbuterol utilizado fue desarrollado e implementado para este fin particular bajo las condiciones de nuestro laboratorio, por lo que la validación fue un procedimiento necesario para mantener la confiabilidad del mismo, así como de los resultados reportados. La validación comprendió la evaluación de la selectividad, la linealidad, la precisión en términos de repetibilidad y reproducibilidad, la exactitud evaluada como % de recobro absoluto y Desviación Estándar Absoluta (DEA), así como los límites LD y LC.

Evaluación de los parámetros de validación

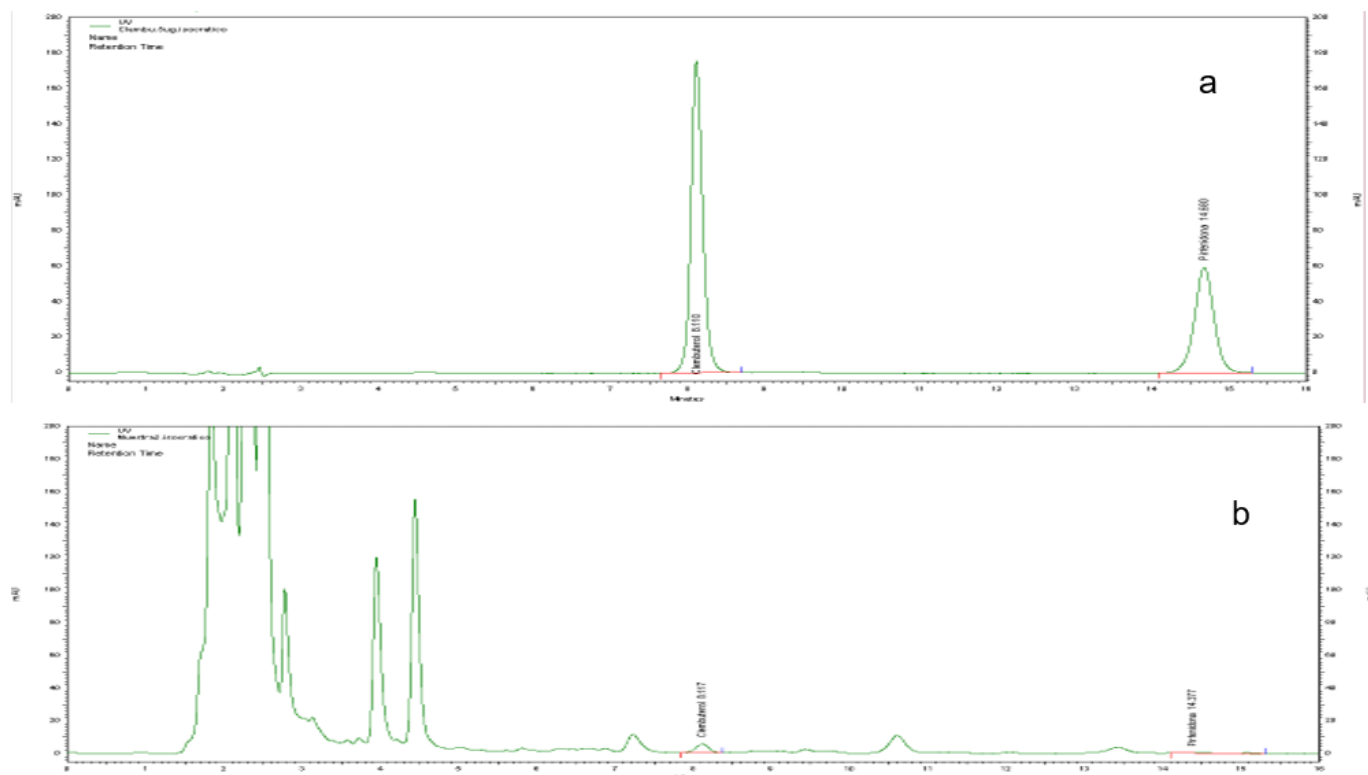


Figura 2. a) Cromatograma típico de clenbuterol y pirfenidona en fase móvil, b) muestra de hígado después de la extracción (blanco control), c) muestra de músculo después de la extracción (blanco control), d) y en la matriz de hígado de res después de la extracción.

Linealidad. La linealidad se verificó mediante el uso de muestras cargadas con diferentes concentraciones de clenbuterol, desde 50 a 5000 ng/mL utilizando un homogeneizado de hígado de res libre de clenbuterol. En la Figura 3 se encuentra el cromatograma típico de las muestras de la curva de cuantificación después de la

Selectividad. Con la finalidad de discriminar cualquier señal que pudiera interferir con la presencia del estándar interno (Pirfenidona) y del analito de interés (Clenbuterol), se realizaron diferentes análisis, procesando muestras de músculo e hígado de res exentas de clenbuterol como blancos control. En la Figura 2 se muestran los cromatogramas típicos obtenidos de los estándares de clenbuterol y pirfenidona disueltos en fase móvil, así como muestras de blanco control de hígado y músculo de res exentos de clenbuterol y de una de las muestras evaluadas.

No se encuentran señales de posibles interferencias en los tiempos correspondientes al clenbuterol (TR= 8.1 min) y del estándar interno (TR=14.6 min).

extracción y se aprecia que las alturas de la señal de clenbuterol son proporcionales a la concentración, mientras que la altura del estándar interno se mantiene constante en cada una de las diferentes inyecciones.

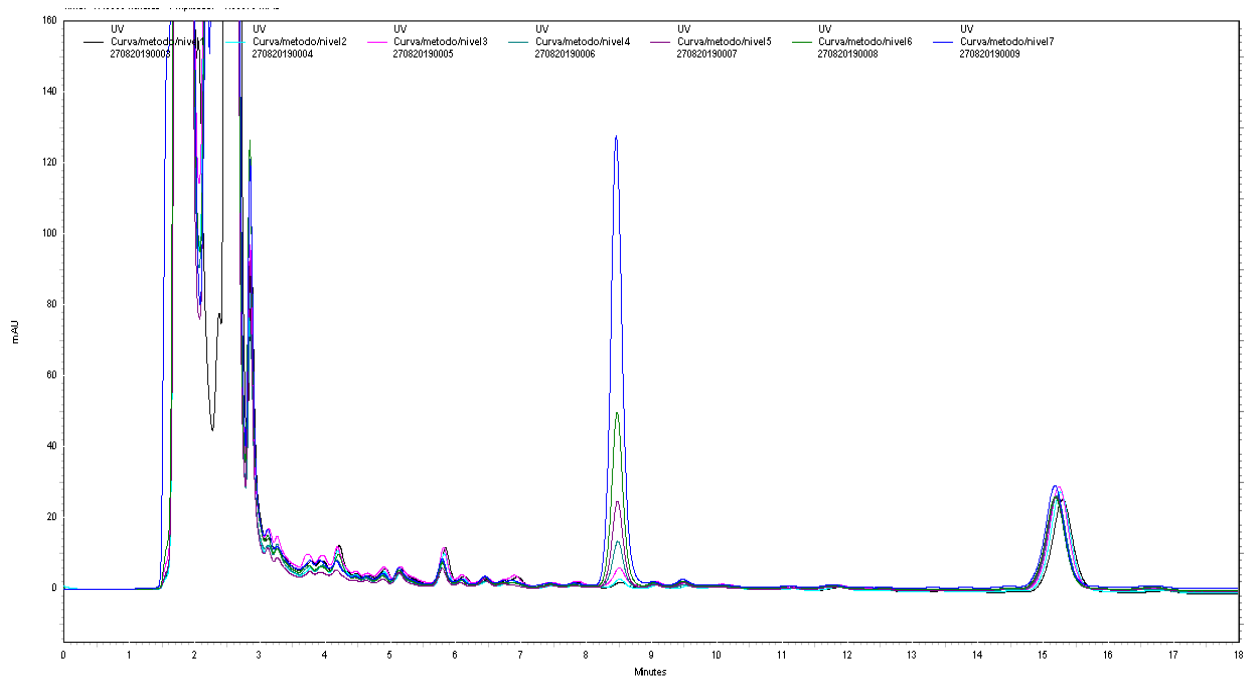


Figura 3. Cromatogramas típicos de las muestras de la curva de cuantificación de Clembuterol preparada con una matriz de hígado de res.

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la estimación de los parámetros de linealidad. Se puede observar que el resultado mostrado en cada una de las curvas presenta un coeficiente de correlación (r) mayor a 0.99, con los que se considera que el método es lineal.

Tabla 1. Parámetros de la evaluación de la linealidad (resultados representativos de 2 días de evaluación).

LINEALIDAD			
PARÁMETRO	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3
m	0.00062	0.00061	0.0006
b	-0.00617	-0.00026	0.00139
r	0.99988	0.99987	0.99991
			ESPECIFICACIÓN
			≥ 0.99

Precisión. En la Tabla 2 se encuentra la evaluación de la precisión del método analítico, evaluada como repetibilidad y reproducibilidad. El coeficiente de variación (CV%) en los 3 niveles de control se mantiene por debajo del 15%, mostrando que el método es repetible en cada día de evaluación, y que, de forma semejante, el método es reproducible (Precisión intermedia), dado que el CV% global de 2 días es también menor al 15% en los tres niveles evaluados.

Tabla 2. Parámetros de la evaluación de la Precisión como Repetibilidad y Reproducibilidad.

REPETIBILIDAD

	Nivel (ng/mL)	Promedio	DE	CV%	ESPECIFICACIÓN %
DÍA 1	150	154.5	9.2	5.95	< 15.0
	2500	2682.94	47.92	1.79	< 15.0
	4500	4396.75	67.28	1.53	< 15.0
DÍA 2	150	145.72	7.76	5.32	< 15.0
	2500	2487.65	94.59	3.8	< 15.0
	4500	4438.92	211.9	4.77	< 15.0

REPRODUCIBILIDAD

	Nivel (ng/mL)	Promedio	DE	CV%	ESPECIFICACIÓN %
	150	150.51	8.91	5.92	< 15.0
	2500	2585.294	124.87	4.83	< 15.0
	4500	4417.837	149.87	3.39	< 15.0

Exactitud. La exactitud evaluada en dos días de trabajo, mantiene una DEA menor al 15% en los 3 niveles de control, mientras que el recobro absoluto del método mostró un comportamiento homogéneo, ya que este se mantuvo entre el 97.68 y el 99.51% a lo largo de todo el rango de la curva de cuantificación; con estos resultados se muestran que el método permite la extracción eficiente del analito bajo estudio a partir de las dos matrices analizadas, con valores promedios de 98.61 % para el recobro y de 1.39% para la DEA. Estos resultados que se pueden apreciar en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Parámetros de la evaluación de la exactitud

EXACTITUD				
Nivel (ng/mL)	% Reco-bro	ESPECIFICA-CIÓN %	DEA %	ESPECIFICACIÓN %
150	97.68	100.0 ±15.0	2.32	< 15.0
2500	99.51	100.0 ±15.0	0.49	<1 5.0
4500	98.64	100.0 ±15.0	1.36	< 15.0
PROME-DIO	98.61		1.39	

Límites de detección y cuantificación. Los límites de Detección (LD) y Cuantificación (LC) evaluados se encuentran en la Tabla 4 y fueron 5.025 ng/mL y 15.23 ng/mL respectivamente. La NOM-004-ZOO-1994 y el CODEX ALIMENTARIUS de la FAO establecen el LRM en unidades de µg/kg de tejido. Homologando el LD y el LC del método conforme al LRM indicado se obtiene que, para 5 g de carne de res el LD es de 1.005 ng/kg y el LC es de 3.046 µg/kg respectivamente, lo cual permitió realizar el análisis de los resultados en unidades de µg/kg de tejido.

Tabla 4. Parámetros de la evaluación de la linealidad (resultados representativos de 2 días de evaluación).

LÍMITES DE CUANTIFICACIÓN Y DETECCIÓN		LÍMITES BASADOS EN EL LRM	
LD (ng/mL)	5.025	LD (µg/kg)	1.005
LQ (ng/mL)	15.23	LC (µg/kg)	3.046

Análisis de las muestras

Se recolectaron y analizaron 88 muestras de músculo de res (pierna) y 18 muestras de hígado de res, de tres diferentes centros de recolección (mercados municipales, carnicerías y tiendas de auto servicio) distribuidos dentro del área de Cuernavaca, Morelos, la cual fue dividida en cinco zonas (centro, norte, sur, este y oeste) (Tabla 5).

Los resultados se categorizaron conforme a los límites de detección y cuantificación (en µg/kg), como CUANTIFICABLES, aquellas muestras que presentaron valores de clenbuterol por encima del límite de cuantificación de 3.046 µg/kg; DETECTABLES, aquellas muestras que presentaron valores de clenbuterol entre el límite de detección y el límite de cuantificación (entre 1.005 µg/kg a 3.046 µg/kg) y como NO DETECTABLES, aquellas muestras por debajo del límite de detección, donde el clenbuterol podría estar presente en niveles indetectables o ausente en su totalidad. En este tenor, se estimó el valor promedio general de clenbuterol en las muestras cuantificables de músculo, siendo este de 14.23 ± 13.64 µg/kg con valores que oscilan entre 3.06 y 52.4 µg/kg y para las muestras de hígado de 34.76 ± 16.54 µg/kg, cuyos valores encontrados se encuentran entre 3.46 y 79.7 µg/kg. En la tabla 6 y 7 se encuentran los valores de clenbuterol de cada

muestra en concentración (ng/mL) y en cantidad de clenbuterol por kg de tejido (µg/kg) en músculo e hígado respectivamente.

Tabla 5. Muestras de músculo y de hígado de res recolectadas por zonas y por tipo de establecimiento.

MUESTRAS DE MÚSCULO DE HÍGADO				
ZONA	Mercados municipales	Carnicerías locales	Tienda de autoservicio	Muestras por zona
Centro	3	7	8	18
Norte	1	18	4	23
Sur	1	9	1	11
Este	2	14	4	20
Oeste	2	9	5	16
Total	9	57	22	88

MUESTRAS DE HÍGADO DE RES				
Centro	2	0	5	7
Norte	0	0	3	3
Sur	0	0	1	1
Este	1	0	2	3
Oeste	1	0	3	4
Total	4	0	14	18

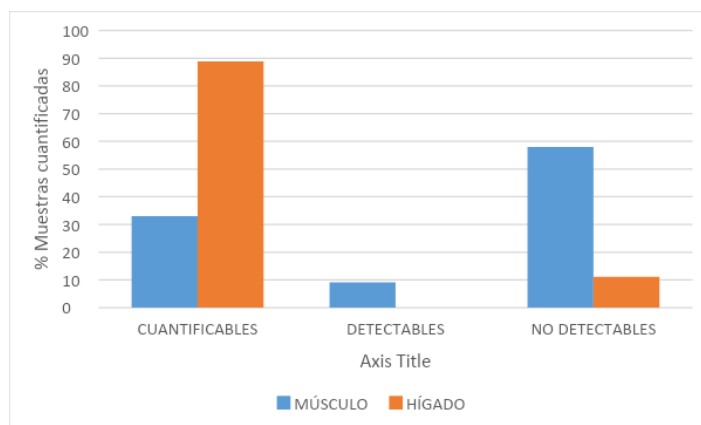
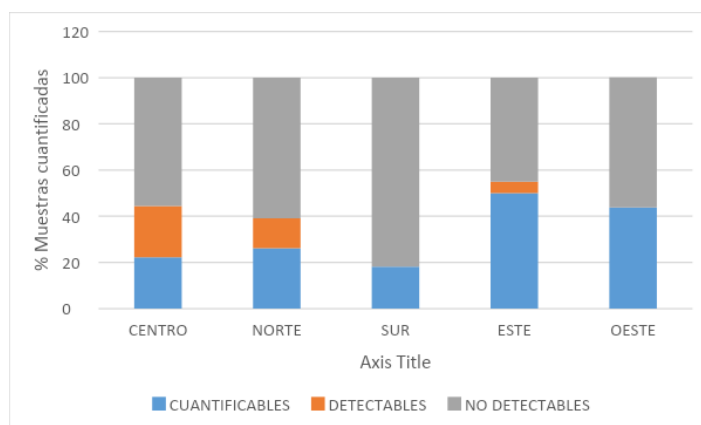
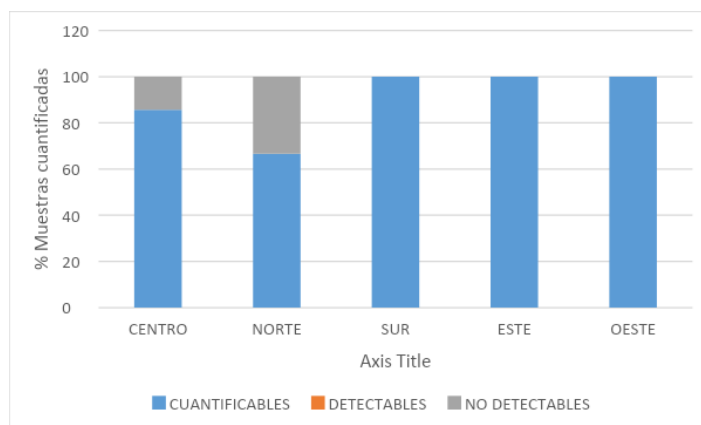
a) Evaluación conforme al nivel de clenbuterol presente en las muestras. En la Figura 4 se encuentra la distribución general del contenido de clenbuterol en las muestras colectadas, tanto de músculo como de hígado de res. El 33% de las muestras de músculo (29 muestras) se clasifican como CUANTIFICABLES, con niveles de clenbuterol mayores a 3.046 µg/kg (14.23 ± 13.64 µg/kg), mientras que las de hígado representan el 88.9% (16 muestras, 34.76 ± 16.54 µg/kg), que se debe principalmente al grado de acumulación del compuesto en este último tejido después de su consumo.

**Tabla 6.** Cantidad de clenbuterol en músculo de res en las muestras colectadas y analizadas.

ZONA CENTRO			ZONA NORTE (continuación)			ZONA ESTE (continuación)		
Muestra	Clenbuterol (ng/ml)	Clenbuterol en tejido (µg/kg)	Muestra	Clenbuterol (ng/ml)	Clenbuterol en tejido (µg/kg)	Muestra	Clenbuterol (ng/ml)	Clenbuterol en tejido (µg/kg)
M-C-1	190.56	38.11	M-N-13	0	0	M-E-8	19.01	3.8
M-C-2	114.46	22.89	M-N-14	0	0	M-E-9	18.1	3.62
M-C-3	54	10.8	M-N-15	0	0	M-E-10	15.31	3.06
M-C-4	22.88	4.58	M-N-16	0	0	M-E-11	13.9	2.78
M-C-5	14.73	2.95	M-N-17	0	0	M-E-12	3.5	0.7
M-C-6	13.71	2.74	M-N-18	0	0	M-E-13	2.34	0.47
M-C-7	12.8	2.56	M-N-19	0	0	M-E-14	0.82	0.16
M-C-8	11.46	2.29	M-N-20	0	0	M-E-15	0	0
M-C-9	0	0	M-N-21	0	0	M-E-16	0	0
M-C-10	0	0	M-N-22	0	0	M-E-17	0	0
M-C-11	0	0	M-N-23	0	0	M-E-18	0	0
M-C-12	0	0	ZONA SUR			M-E-19	0	0
M-C-13	0	0	M-S-1	262.01	52.4	M-E-20	0	0
M-C-14	0	0	M-S-2	45.58	9.12	ZONA OESTE		
M-C-15	0	0	M-S-3	0.18	0.04	M-O-1	140.63	28.13
M-C-16	0	0	M-S-4	0	0	M-O-2	122.95	24.59
M-C-17	0	0	M-S-5	0	0	M-O-3	76.76	15.35
M-C-18	0	0	M-S-6	0	0	M-O-4	54.07	10.81
ZONA NORTE			M-S-7	0	0	M-O-5	52.56	10.51
M-N-1	136.11	27.22	M-S-8	0	0	M-O-6	40.2	8.04
M-N-2	112.19	22.44	M-S-9	0	0	M-O-7	34.94	6.99
M-N-3	46.44	9.29	M-S-10	0	0	M-O-8	2.52	0.5
M-N-4	18.93	3.79	M-S-11	0	0	M-O-9	1.14	0.23
M-N-5	16.91	3.38	ZONA ESTE			M-O-10	0.41	0.08
M-N-6	16.65	3.33	M-E-1	242.08	48.42	M-O-11	0	0
M-N-7	12.76	2.55	M-E-2	86.31	17.26	M-O-12	0	0
M-N-8	9.74	1.95	M-E-3	32.52	6.5	M-O-13	0	0
M-N-9	5.66	1.13	M-E-4	27.03	5.41	M-O-14	0	0
M-N-10	2.74	0.55	M-E-5	23.16	4.63	M-O-15	0	0
M-N-11	0	0	M-E-6	21.95	4.39	M-O-16	0	0
M-N-12	0	0	M-E-7	20.02	4			

**Tabla 7.** Cantidad de clembuterol en hígado de res en las muestras colectadas y analizadas.

ZONA CENTRO		
Muestra	Clembuterol (ng/ml)	Clembuterol en tejido (µg/kg)
H-C-1-01	398.5	79.7
H-C-1-01	181.4	36.28
H-C-2-01	166.71	33.34
H-C-2-02	161.38	32.28
H-C-2-03	115.35	23.07
H-C-2-04	60.81	12.16
H-C-2-05	0	0
ZONA NORTE		
H-N-2-01	265.59	53.12
H-N-2-02	172.93	34.59
H-N-2-03	0	0
ZONA SUR		
H-S-2-01	187.51	37.5
ZONA ESTE		
H-E-1-01	216.9	43.38
H-E-2-01	163.17	32.63
H-E-2-02	152.66	30.53
ZONA OESTE		
H-O-1-01	182.83	36.57
H-O-2-01	172.84	34.57
H-O-2-02	165.66	33.13
H-O-2-03	17.28	3.46

**Figura 4.** Clasificación de muestras de músculo e hígado de res colectada en Cuernavaca, Morelos con base a los niveles de Clembuterol cuantificado.**Figura 5.** Muestras de músculo de res que contienen niveles de Clembuterol analizadas conforme a la zona.**Figura 6.** Muestras de hígado de res que contienen niveles de Clembuterol analizadas conforme a la zona.

Como se ha comentado, el hígado es el tejido donde más se acumula el clembuterol, y esto se ve confirmado con los resultados correspondientes a las muestras colectadas en cada zona. La



Figura 6 muestra la distribución de los resultados obtenidos para las muestras de hígado. El total de las muestras colectadas en las zonas Sur, Este y Oeste (100% de cada zona) presentaron altos niveles del compuesto, mientras que solo 6 muestras de la zona Centro (85.7%), y 2 muestras de la zona Norte (66.0%) presentaron niveles cuantificables de clembuterol. Cabe mencionar que solo 2 muestras de hígado colectadas en la zona Centro y Norte (una en cada zona) no presentaron niveles de clembuterol, con lo que se puede concluir que prácticamente el 87.5% de las muestras de hígado colectadas en los diversos centros de venta se encuentran contaminadas con clembuterol (Figura 6) y con niveles que exceden el Límite Máximo de Residuos (LMR) de 0.6 $\mu\text{g/kg}$ para hígado de res.

b) Análisis por punto de recolección. En la Figura 7 se pueden apreciar los resultados del análisis estadístico por punto de recolección. De las 88 muestras analizadas de músculo de res, 57 muestras fueron de carnicerías, 9 procedieron de mercados y 22 de centros comerciales. Considerando el total de cada categoría como el 100%, se puede observar que de las adquiridas en carnicerías, el 35.08% de ellas (20 muestras) tuvieron residuos de clembuterol; de las procedentes de mercados municipales el 55.55% (5 muestras) tuvieron residuos de clembuterol; mientras que de las provenientes de tiendas de autoservicio, se detectaron residuos de clembuterol en el 50% (11 muestras).

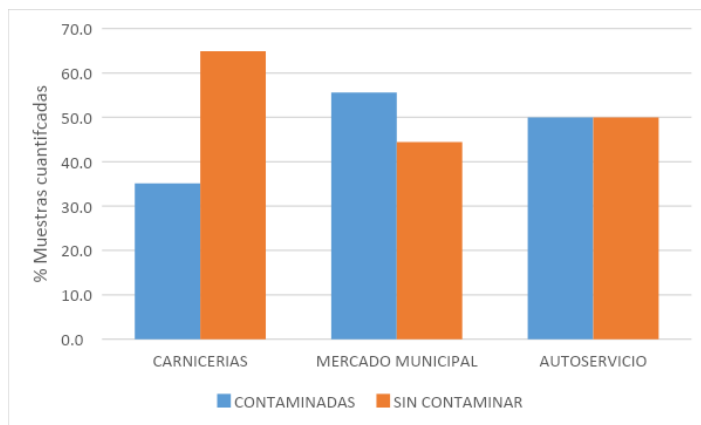


Figura 7. Distribución de muestras con residuo de clembuterol en músculo de res según el punto de recolección.

De las 18 muestras analizadas de hígado de res, 4 de las muestras fueron de mercados municipales, de las cuales el 100% (4 muestras) tuvieron residuos de clembuterol; de las 14 muestras provenientes de tiendas de autoservicio, el 85.71% (12 muestras) presentaron contaminación por clembuterol. No se recolectaron muestras de hígado en carnicerías ya que este tejido no se vende de manera común en este tipo de establecimientos; de igual forma, en mercados municipales fue complicado encontrar la venta de este producto, de manera que para este trabajo de investigación no se pudo contar con muestras procedentes de la zona Norte y Sur, realizándose la evaluación estadística con las muestras adquiridas (Figura 8).

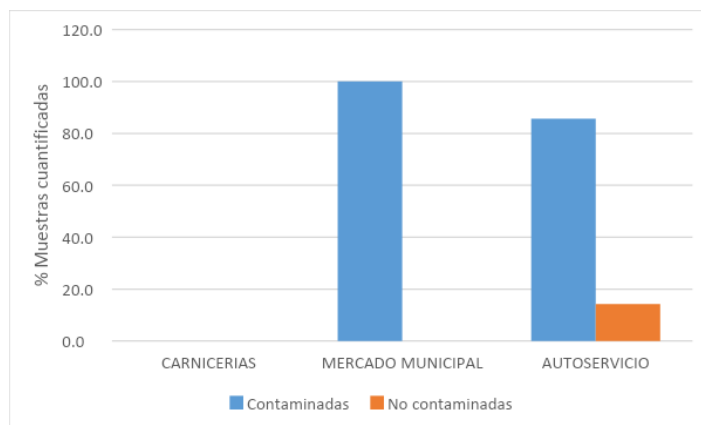


Figura 8. Distribución de muestras con residuo de clembuterol en hígado de res según el punto de recolección.

Discusión

Actualmente la cuantificación del clembuterol se realiza mediante cromatografía de gases, ensayo inmunoenzimático y cromatografía de líquidos.²⁴ En este trabajo se utilizó un método analítico de cromatografía de líquidos con detector ultravioleta para la detección y cuantificación de residuos de clembuterol en muestras de músculo e hígado de res colectada en el valle de Cuernavaca.

Para nuestro propósito, los límites de detección y cuantificación obtenidos permitieron identificar aquellas muestras que contenían niveles contaminantes de clembuterol.

Basados en la equivalencia de los límites de cuantificación y detección en $\mu\text{g/kg}$ de peso de carne considerando una muestra de 5 g, se pudo encontrar que las muestras con clembuterol rebasan en gran medida el Límite Máximo de Residuos (LMR) de 0.2 $\mu\text{g/kg}$ para músculo de res y 0.6 $\mu\text{g/kg}$ para hígado de res²⁶ establecido por el Codex Alimentarius del comité mixto FAO/OMS.³⁰ Los niveles encontrados en las muestras analizadas de músculo e hígado de res son considerablemente superiores a los límites establecidos, por lo que se confirma la presencia de clembuterol en productos cárnicos comercializados en varios establecimientos de la zona de Cuernavaca, en el Estado de Morelos.

En referencia a los niveles de residuos de clembuterol encontrados en las muestras de hígado de res, se observó que las cantidades son más altas que las encontradas en músculo de res, concordando estos resultados con los ya reportados previamente y debido a que este compuesto sufre un alto grado de metabolismo, además de que el hígado es un órgano altamente irrigado y con mayor capacidad para almacenar los residuos, a diferencia de lo que puede suceder a nivel de músculo y por lo cual se han establecido dos LMR uno para el músculo de res (0.2 $\mu\text{g/kg}$) y otro para el hígado de res (0.6 $\mu\text{g/kg}$), siendo la relación es 3 a 1.³⁰ Un detalle adicional es que en más del 90% de las muestras analizadas de hígado de res, se encontraron residuos de clembuterol. Es relevante mostrar que, a pesar de la búsqueda de muestras en diversos establecimientos, se encontró que en carnicerías populares no se expende el hígado de forma común, es más fácil adquirir este tipo de tejido en carnicerías de los supermercados o en las tiendas de



autoservicio. Es posible que la mayor demanda de este producto se de en los locales de tianguis populares, cuyos propietarios pueden tener mayor acceso a la compra a partir de los rastros municipales. Y si se considera que dicho tejido es proporcionalmente menor que el músculo de res, la cantidad que puede encontrarse en los establecimientos será muy limitada, lo cual explica la situación de no encontrarlos a la venta de manera común en algunas zonas, como es el caso de las pocas muestras colectadas en carnicerías, independiente de la zona geográfica.

La cantidad de clenbuterol encontrada en músculo de res varía ampliamente en todas las muestras analizadas, sin embargo, como se puede verificar en los resultados obtenidos, en términos prácticos, el 42% de las muestras presento niveles de clenbuterol. Los niveles determinados fueron menores que los encontrados en las muestras de hígado, situación que se explica por el grado de acumulación que el clenbuterol tiene en este tejido.

Aunque la NOM-061-ZOO- 1999 y la NOM-EM-ZOO-2002 prohíben el uso de clenbuterol en la alimentación del ganado, los resultados del presente estudio muestran la presencia de residuos de clenbuterol en muestras cárnicas, a pesar de los esfuerzos de las autoridades de restringir el uso de este compuesto mediante los diversos programas de prevención de la inocuidad implementados a través de la SENASICA.⁷

Debe recalarse que los diversos casos de intoxicación por clenbuterol reportados pueden tener como origen la ingestión el consumo de carne de bovino que no ha sido preparada adecuadamente, dado que prevalecen los niveles de clenbuterol aún después de su exposición al proceso de cocción, y aunque no se evaluó la estabilidad del compuesto bajo estudio, se han referido varios casos de intoxicación por consumo de dicho tipo de alimentos.

La otra fuente es el consumo directo de clenbuterol por parte de deportistas quienes lo utilizan como agente anabólico, lo cual puede generar mayores riesgos a la salud del consumidor, como los casos reportados por Ezquerro Osorio y colaboradores en 2019.¹⁹

La información sobre casos de intoxicación por clenbuterol es escasa en las revistas mexicanas de medicina humana, siendo más abundante en periódicos y diarios, aun cuando esto se ha considerado un problema de salud pública.³⁶

Conclusiones

Como corolario de nuestro trabajo de investigación, se concluye en primer lugar, que se logró desarrollar y validar un método analítico para la cuantificación de Clenbuterol en productos cárnicos, específicamente en músculo e hígado de res, el cual fue selectivo, preciso y exacto. En segundo lugar, el método permitió la detectar la presencia de niveles de clenbuterol en los tejidos ya citados, colectados en diferentes establecimientos comerciales en la zona de Cuernavaca, Morelos. Los resultados de este estudio mostraron que el hígado es el tejido que mayor contaminación presenta. Sin ser concluyente, se puede apreciar que es posible que se siga utilizando el clenbuterol como agente anabolizante en diversas regiones del Estado de Morelos donde la cría de ganado bovino es una actividad económica relevante, a pesar de los esfuerzos de las autoridades agropecuarias para erradicar esta práctica.

Esta publicación llega a ti gracias
a los amables donativos de:



EQUIPOS DE LABORATORIO

División Latinoamérica

www.buchi.com



Consultoría analítica, regulatoria
e industrial

<https://grupoidaii.com>



Dra. Berenice Rivera Ramirez

cardiólogo pediatra Ecocardiografista

draberenicerivera.com

36. Murillo-Godínez, G. *Clenbuterol. Repercusiones en la salud humana por su uso veterinario* - Revista Electrónica de Portalesmedicos.com.

Portalesmedicos.com. Recuperado el 7 de agosto de 2023, de <https://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articles/4370/2/>