

**VERIFICACION DEL KIT RIDASCREEN® RACTOPAMIN PARA SU  
APLICACIÓN EN DETECCIÓN DEL ANABÓLICO (RACTOPAMINA)  
PRESENTE EN CARNE PORCINA.**

**RAUL EDUARDO LIZCANO RIVERA**

**PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AMBIENTAL, CIVIL Y  
QUÍMICA**

**FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA**



**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA**

**Santa Rosa de Osos, julio de 2021**

**VERIFICACION DEL KIT RIDASCREEN® RACTOPAMIN PARA SU  
APLICACIÓN EN DETECCION DEL ANABÓLICO (RACTOPAMINA)  
PRESENTE EN CARNE PORCINA.**

**RAUL EDUARDO LIZCANO RIVERA**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de  
INGENIERO QUÍMICO**

**Director: Msc. DAISSY LORENA RESTREPO SERNA.**

**PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AMBIENTAL, CIVIL Y  
QUÍMICA**

**FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA**

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA**

**Santa Rosa de Osos, julio de 2021**

## Dedicatoria

Este documento está dedicado a mi familia quienes fueron las que me apoyaron incondicionalmente durante mi pregrado sin importar las circunstancias.

Por eso y mucho más, ¡Gracias familia!

## **AGRADECIMIENTOS**

Primero, como persona creyente, quiero agradecer a Dios por darme la sabiduría durante mi proceso. Estoy consciente de que jamás me dejó solo, incluso en mis peores momentos. Cuando las cosas se tornaron difíciles, una oración bastó para continuar con mis sueños. Por tal motivo, Dios siempre ocupará el primer lugar en todo logro alcanzado.

A mi familia, aquellas personas que me han dado todo sin yo darles nada a cambio. Gracias a sus palabras de amor y voz de aliento puede culminar una etapa más en mi vida, por esta razón y muchas más son mencionadas en este trabajo. Las palabras no alcanzan para agradecer el esfuerzo que han dado; esfuerzo que en persona he presenciado. Pero desde el fondo de mi corazón estaré en deuda con todos ustedes, el motor que me impulsó a llegar hasta aquí.

## TABLA DE CONTENIDO

1. RESUMEN .....	8
2. PALABRAS CLAVE .....	9
3. INTRODUCCION .....	9
4. OBJETIVOS .....	10
4.1 OBJETIVO GENERAL .....	10
4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	10
5. MARCO TEORICO .....	11
6. METODOLOGIA.....	14
7. RESULTADOS Y ANALISIS .....	19
8. RECOMENDACIONES.....	23
9. CONCLUSIONES.....	23
10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	24

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Límites de detección ofrecido por la prueba RIDASCRREN® RACTOPAMIN....	3
Tabla 2. Resultados estándares de calibración de la prueba. ....	19
Tabla 3. Resultados montaje#1. ....	0
Tabla 4. Resultado valores promedio de muestras y porcentaje de error.....	3
Tabla 5. Resultados estándares de calibración de la prueba. ....	21
Tabla 6. Resultados montaje#2.....	21
Tabla 7. Resultado valores promedio de muestras y porcentaje de error.. ....	22

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de evaporación de las muestras.....	15
Figura 2. Curva de estandarización Montaje#1.. .....	19
Figura 3. Curva de estandarización Montaje#2.. .....	21

## 1. RESUMEN

El control de residuos de medicamentos en bovinos y porcinos es de suma importancia para la planta FRIGOCOLANTA, ya que permite ofrecer un producto que cumpla con el límite máximo de sustancias de uso veterinario que sean perjudiciales para el ser humano, bajo el amparo de normativas como la resolución 1382 del 2003 que establece desde que nivel dicha sustancia puede generar afectaciones al consumidor. Con el presente proyecto se buscó verificar la prueba de detección de anabólicos RIDASCREEN RACTOPAMIN garantizando que los parámetros establecidos en la validación suministrada por el laboratorio sean confiables y el desempeño cuantitativo de la prueba sea aceptable. Se realizó la incubación de Ractopamina en muestras de carne porcina en dos diferentes concentraciones (200ppt y 0,1ppm), como resultados después de realizar el desarrollo de la prueba se obtuvo que el porcentaje de error de los ensayos a las concentraciones anteriormente mencionadas fue de un 65,79% para las muestras contaminadas a 200ppt y de 6,34% para las muestras contaminadas a 0,1ppm en el montaje #1 y 61% para las muestras contaminadas a 200ppt y de 0% para las muestras contaminadas a 0,1ppm en el montaje #2. Los resultados no son los adecuados ya que se presenta un porcentaje de error alto teniendo de base los resultados esperados teóricamente, se sugirió seguir las recomendaciones expuestas en el documento para seguir con el estudio de verificación y obtener resultados más confiables y certeros.

## **2. PALABRAS CLAVE**

Detección de anabólicos, RIDASCREEN, promotores de crecimiento, antígeno, Ractopamina.

## **3. INTRODUCCION**

En la industria de procesamiento de cárnicos es requerido realizar un control y análisis adecuado de las muestras de producto con el fin de garantizar al consumidor un producto libre de residuos de anabólicos u otro tipo de sustancias que puedan ocasionar afectaciones a la salud. De esta forma, se han desarrollado diferentes metodologías para la detección y valoración de anabólicos en porcinos, una de ellas es la prueba RIDASCREEN® RACTOPAMIN, capaz de detectar la presencia de Ractopamina por debajo o al nivel máximo permitido según la regulación o estándares de la empresa productora.

FRIGOCOLANTA, es un frigorífico perteneciente a la Cooperativa Colanta ubicado en el municipio de Santa Rosa de Osos (Antioquia) que garantiza el cumplimiento de estrictos estándares de calidad para el beneficio y desposte de bovinos, porcinos, ovinos y caprinos; contando con procesos tecnificados y recurso humano calificado obteniendo como resultado la producción de carne tipo “Premium” (Colanta, 2021). De esta manera, se emplea el método estandarizado RIDASCREEN® RACTOPAMIN en pro de evaluar la presencia de residuos de anabólicos en carne fresca. Esta prueba detecta la presencia de Ractopamina por encima del nivel máximo permitido.

La planta de beneficio de FRIGOCOLANTA está regida por la resolución 1382 de 2013 emitida por el Ministerio de Salud y Protección de Colombia, la cual tiene por objeto establecer los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal destinados al consumo humano, con el fin de proteger la salud de la población. Dicha resolución tiene aplicabilidad a quien desarrolle actividades de fabricación, importación, comercialización, distribución y expendio de alimentos de origen animal. Otras normas aplicables a las plantas de beneficio son el decreto 1500 de 2007 (Ministerio de la Protección Social) mediante el cual se establece el reglamento técnico a través del cual se crea el sistema oficial de inspección, vigilancia y control de la carne, productos cárnicos comestibles y derivados cárnicos destinados al consumo humano, siendo el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) el encargado de hacer cumplir dicho decreto. Asimismo, la norma ISO 17025 proporciona los requisitos necesarios que deben cumplir los laboratorios de ensayo y calibración con el objetivo de garantizar la competencia técnica y la fiabilidad de los resultados analíticos.

Teniendo en cuenta lo anterior es importante que dentro de FRIGOCOLANTA se garantice el cumplimiento de la normativa aplicable y se monitoreen constantemente los indicadores relacionados con la calidad de los productos que se ofrecen al consumidor minimizando cualquier tipo de efecto adverso sobre la población. Por ello, no basta con emplear métodos

analíticos estándar, sino verificar constantemente que estos presenten resultados confiables respecto a los parámetros evaluados (en el caso del KIT RIDASCREEN® RACTOPAMIN la presencia o no de residuos de anabólicos).

Basado en lo expuesto el objetivo principal se enmarca en la verificación del KIT RIDASCREEN® RACTOPAMIN para su aplicación en detección del anabólico (RACTOPAMINA) presente en carne porcina en la planta FRIGOCOLANTA y corroborar su desempeño analítico mediante un análisis estadístico de datos recolectados al aplicar la prueba a carne porcina inyectadas con Ractopamina en concentraciones conocidas, confirmando la fiabilidad de los parámetros soportados por el fabricante en el proceso de validación.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GENERAL**

Realizar la verificación del ensayo RIDASCREEN® RACTOPAMIN, para el análisis cuantitativo de Ractopamina en carne porcina.

### **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Establecer límites de detección de la presencia de anabólico (RACTOPAMINA) en muestras de procedencia animal (porcinos) procesadas en la cadena de producción de FRIGOCOLANTA.
- Evaluar estadísticamente la aplicabilidad de la prueba RIDASCREEN® RACTOPAMIN para la detección de anabólicos en carne de porcino en FRIGOCOLANTA.

## 5. MARCO TEORICO

En la producción animal se han desarrollado técnicas de mejoramiento genético y de manejo nutricional con suplementación energética, proteica y mineral con el propósito de proporcionar los nutrientes necesarios en la dieta de las diferentes especies animales, sobre todo en aquellos destinados al abasto de carne; el uso de aditivos alimenticios y promotores de crecimiento, mejoran la utilización del alimento y sus nutrientes, traducida en una mejora de su eficiencia productiva (Jarrige, 1990; Barcena, 1999; Valladares et al., 2013).

Dentro de los promotores de crecimiento se identifican dos grandes grupos, encontrando a los aditivos-suplementos y compuestos hormonales; suministrados al ganado fundamentalmente por razones nutricionales y sanitarias; y los aditivos utilizados en pequeñas proporciones en la dieta animal para inducir una característica productiva deseable o inhibir alguna indeseable. En comparación con los suplementos considerados como nutrientes que se administran después de haber proporcionado los alimentos básicos en la ración, debido a que tienen la función de cubrir necesidades específicas en la producción animal durante las fases de crecimiento, engorde, preñez o lactancia (Jarrige, 1990).

Los compuestos hormonales derivados de los esteroides, con efecto anabolizantes empleados como compuestos naturales y sintéticos son destinados a estimular las funciones metabólicas y la síntesis proteica, particularmente con el aumento de la masa muscular en los animales de carne, y el crecimiento corporal con una consecuente mejora en la eficiencia de la producción (Busboom y Karen, 2000; Matsch et al., 2002). En el proceso de crecimiento y desarrollo de los animales de abasto se involucran fisiológicamente una serie de hormonas que tienen un efecto anabolizante al incrementar la síntesis de proteína y el acúmulo de glucógeno en las fibras musculares, así como en el depósito de grasa corporal; este efecto compensatorio de crecimiento y ganancia de peso puede ser inducido mediante el uso de ciertas hormonas esteroidales derivadas de los estrógenos y la testosterona, además de la hormona del crecimiento. Las cuales producen un efecto anabólico traducido en crecimiento y ganancia de peso de los animales durante la engorda (Albin y Thompson, 1990; Duckett, 1999).

Desde 1989, en la Unión Europea se ha prohibido el uso de anabólicos en la engorda del ganado productor de carne, además de la prohibición de la comercialización de las canales y la carne de animales tratados con anabolizantes. En algunos países de América aún siguen utilizando los compuestos anabólicos, como es el caso de testosterona, progesterona, 17  $\beta$ -estradiol y anabolizantes sintéticos como el zeranol y acetato de trembolona. En estos países se tienen límites de residuos permisibles en los tejidos de los animales tratados, derivados de las disposiciones dictadas por la FAO (Euskadi, 1995; Metzler y Pfeiffer, 2001)

Desde hace algunos años existe una necesidad de producir mejores alimentos de origen animal, de esta manera se ha estimulado el desarrollo de aditivos que incrementen la eficiencia alimenticia, la ganancia de peso y las características de la canal. Esto ha conducido al uso de hormonas, antibióticos y otros compuestos químicos.

El Clorhidrato de Ractopamina pertenece al grupo de las catecolaminas, el cual es un derivado de la familia de los  $\beta$ -adrenérgicos, que actúa incrementando el flujo sanguíneo, dando consigo una hipertrofia de las fibras musculares esqueléticas, un aumento de la síntesis proteica y una

disminución en la degradación de la proteína muscular. Además, la Ractopamina ejerce una activación directa para promover la hidrólisis de los triglicéridos y disminuye la síntesis de ácidos grasos, lo que provoca una menor acumulación de grasa.

En países como México, fue aprobado el uso de la Ractopamina en el año 2002, para ser utilizada en cerdos en la etapa de finalización, bajo la norma oficial mexicana: NOM-EM-015-ZOO-2002, (SAGARPA, 2002) y corroborada bajo la NOM-064-ZOO-1999 perteneciente a la clase de los  $\beta$ -agonistas; clasificada dentro del grupo I (SENASICA-SAGARPA, 2003). Dicho esto, algunas de las ventajas que tiene el uso de este medicamento veterinario son, aumentar el peso del canal (animal): 2 – 3 puntos porcentuales, disminuir la grasa dorsal: 0.7 a 1 mm y aumentar la profundidad del lomo: 0.8-1.2mm, también una de las ganancias adicionales con el uso de la Ractopamina es generar mayor volumen de carne producida. (Aumenta los Kg carne/cerdo: 2.5 -3.5 Kg).

Se ha indicado que muchos de los promotores de crecimiento en dosis altas como es el caso de los compuestos anabolizantes, aumentan el riesgo de cáncer en los seres humanos, particularmente por el uso del dietiletilb estrol, el acetato de trembolona y el zeranol que puede tener efectos indeseables cuando no se vigila u observa el periodo de retiro, así como los niveles de tolerancia de estos compuestos (Perache, 1990; Altavilla et al., 2001).

La regulación oficial para la utilización de hormonas en la producción animal, varía en diversos países, como en el caso del dietiletilbestrol, su uso está prohibido en la mayoría de los países por su efecto cancerígeno en el humano (Coe et al., 1992; Roncato et al., 2003).

La carne que contiene residuos de anabólicos trae consigo problemas en salud pública asociados a un desarrollo sexual prematuro (variable según el sexo del individuo, presentación y desarrollo de las características sexuales de la población), y que generalmente ocurre por la ingesta de productos cárnicos con residuos de estrógenos (Epstein, 1990).

La restricción del uso de esteroides en la Comunidad europea, se debió a numerosos informes que asociaron el uso de los promotores hormonales del crecimiento en los animales, con la incidencia infrecuente de problemas de cáncer en el humano. Particularmente relacionados con el empleo del dietietilbestrol, que presenta efectos nocivos con sus características estructurales, que pueden provocar daños potenciales genotóxicos por el consumo de alimentos cárnicos contaminados (Euskadi, 1995; Sánchez, 1998; Enríquez et al., 1998; Mc Evoy, 2002).

El consumo prolongado de carne con residuos elevados de estrógenos sintéticos en la mujer puede ocasionar: carcinoma endometrial y aumento del riesgo de cáncer en los senos; diferentes estudios soportan la evidencia (Hoyer, 2001; McLachlan et al., 2001).

Los signos y síntomas asociados en el hombre con un consumo indirecto del dietiletilbestrol en la carne son: náusea o vómito, senos blandos, aumento de peso y además dolor de cabeza. En mujeres se ha observado un aumento de riesgo de cáncer endometrial y presencia de adenocarcinoma en las hijas. En el hombre pueden presentarse estados feminizantes, también se señala que niveles elevados de la hormona en la carne producen problemas de tumores y ginecomastia (Cardoso et al., 1999; Suman, 2000; Pfaffl et al., 2001).

El principio del test (RIDASCREEN® RACTOPAMIN) es la reacción antígeno-anticuerpo. Los pocillos de microtitulación están recubiertos con anticuerpos de captura dirigidos contra los anticuerpos anti-ractopamina. Los anticuerpos anti-ractopamina se agregan y son inmovilizados por anticuerpos de captura. Después de una incubación y lavado, los estándares, muestras y el conjugado enzimático ractopamina son adicionados. La ractopamina libre y el conjugado enzimático compiten por los sitios de unión a los anticuerpos (inmunoensayo enzimático competitivo). Cualquier conjugado enzimático no unido se elimina después en un paso de lavado. La solución sustrato/cromógeno se añade a los pocillos y se incuba. El conjugado enzimático unido convierte el cromógeno en un producto azul.

La adición de la solución de parada da lugar a un cambio de color de azul a amarillo. La medición se realiza fotométricamente a 450 nm. La absorción es inversamente proporcional a la concentración de la Ractopamina en la muestra.

La Tabla 1 presenta los límites de detección teóricos brindados por el proveedor de la prueba.

**Tabla 1. Límites de detección ofrecido por la prueba RIDASCREEN® RACTOPAMIN**

Specifications	
Article Numbers	R9901
Test format	Microtiter plate with 96 wells (12 strips with 8 wells each)
Sample preparation	Urine (direct): without sample preparation, urine (with hydrolysis): hydrolysis, extraction, centrifugation and evaporation, meat, liver: homogenization, extraction, centrifugation, evaporation and centrifugation.
Incubation time	1 hr 30 min
LOD (Detection limit)	Urine (with hydrolysis) ca. 700 ng/l (ppt), meat (beef, pork) ca. 200 ng/kg, liver ca. 300 ng/kg
Validated matrices	Urine, meat and liver.
Detected analyte	Ractopamine in urine, meat and liver and ractopamin glucuronide in urine.

## 6. METODOLOGIA

Para dar cumplimiento a los objetivos trazados, se utilizó el medicamento accuremax como anabólico de referencia el cual tiene una composición de 98% de excipientes y 2% de Ractopamina.

La ejecución de la propuesta involucró las siguientes etapas:

**Búsqueda bibliográfica:** Fue necesario contar con la mayor cantidad posible de información concerniente a la prueba que se deseaba verificar, bien fuese aquella brindada por el proveedor o por estudios similares realizados en torno a su implementación. Se buscó también información sobre qué tipos de pruebas existen para cuantificar o detectar anabólicos en muestras de carne animal (porcinos). Se consultó en bases de datos bibliográficas, sitios especializados y publicaciones relacionadas con el área.

**Matriz de diseño de experimentos y número de muestras:** El modelo de diseño de experimentos que se planteó para llevar a cabo la verificación tenía como objetivo identificar qué factores influyen en una variable de interés. En este caso, los factores de tratamiento estudiados fueron la presencia de Ractopamina a una concentración igual o por encima del límite de detección del medicamento en el KIT RIDASCREEN® RACTOPAMIN.

Para llevar a cabo el ejercicio de verificación se definieron aspectos relevantes que permitieran encontrar un camino para dar respuesta al objetivo que se pretendía alcanzar, los cuales se detallan a continuación:

Se tuvo en cuenta la validación llevada a cabo por el laboratorio R-Biopharm y la norma ISO 16140-3 en la cual se sugiere utilizar para la ejecución de la verificación un tamaño de muestra igual al llevado a cabo en la validación, se estableció como variable la concentración de Ractopamina inoculada en el tejido muscular en carne porcina.

**Aplicación de anabólico en muestras de carne:** La inoculación de la carne se realizó artificialmente al procesar 80 g de muestra de diafragma animal (porcino) y 20 mL de solución acuosa de Ractopamina a 200 ppt y 0.1 ppm. Las soluciones acuosas de medicamento Ractopamina, se prepararon a partir diversas diluciones partiendo de una concentración de 2,5 mg/500mL. Las muestras fueron inyectadas a diferentes concentraciones según lo indica la ISO/DIS 16140-3 (NTC ISO 16140-3, 2017) en el protocolo de verificación para métodos cualitativos llevados a cabo en un laboratorio en el sector alimenticio.

**Procedimiento Experimental KIT (RIDASCREEN® RACTOPAMIN):** Se desarrolló siguiendo los siguientes pasos, y el uso del kit RIDASCREEN® RACTOPAMIN:

**Toma de muestra:**

**-Identificación de la muestra:** Se identificó una bolsa estéril para la toma de muestra de cada canal, corte o producto cárnico comestible con la siguiente información: Código de la muestra, tipo de análisis, número consecutivo del laboratorio, lote, número de la canal.

**-Toma de muestra:** Se tomaron aproximadamente 200 g de muestra de diafragma de las canales, se evitó tomar tejido graso, el cuchillo utilizado para los cortes se encontraba estéril entre cada muestra.

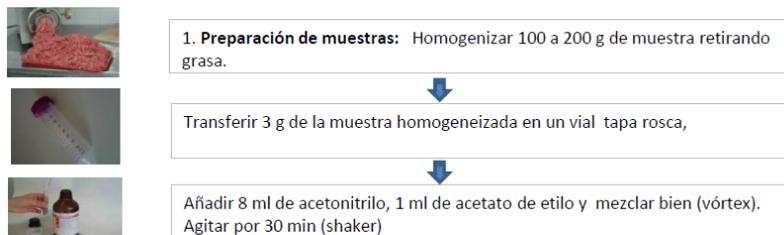
**-Registro de la información:** Se registró la información de la muestra en el formato establecido para tal fin.

**-Almacenamiento de muestras:** Las muestras fueron llevadas al laboratorio y almacenadas a una temperatura entre 0°C y 4°C mientras se procesaban.

### **Pasos secuenciales prueba de anabólicos RIDASCREEN® RACTOPAMIN:**

**Preparación de la muestra:** Se retira del corte de producto cárnico residuos de grasa presentes en el mismo, seguidamente se depositan en un mezclador para realizar la molienda de la muestra a una masa más fina.

**Ejecución de la prueba:** luego de realizar la molienda de cada una de nuestras muestras, se transfieren 3 gramos de cada muestra homogeneizada en un vial tapa rosca el cual debe estar previamente marcado, esto para facilitar la identificación de cada una de las muestras.



Seguidamente se agregó a cada uno de estos viales 8mL de acetonitrilo y 1mL de acetato de etilo, al realizar este procedimiento se mezcla muy bien nuestro vial. Luego de esto se realiza una agitación durante 30 minutos haciendo uso de un agitador.

Después de pasar estos 30 minutos de agitación, se centrifugaron las muestras durante 10 minutos/ 4000g a una temperatura de 20-25 grados centígrados.

Luego de esto se transfieren 4mL del sobrenadante en un nuevo vial de centrifuga y evaporar a sequedad a 60 grados centígrados.

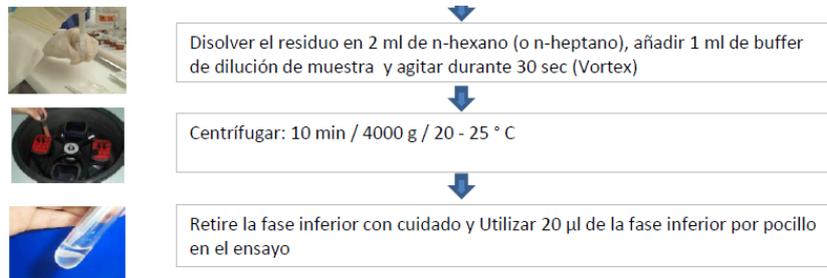


Figura #1 proceso de evaporación de las muestras.

Después secar las muestras se disuelve el residuo de cada una de ellas en 2mL de n-hexano, se añade 1mL de buffer de dilución de muestra y se agita durante 30 segundos.

Luego de esto se centrifugo nuevamente las muestras durante 10 minutos/ 4000g a una temperatura de 20-25 grados centígrados.

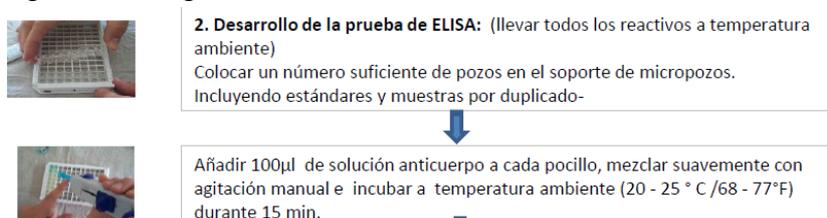
Luego de esto se retiró la fase inferior del sobrenadante y se utilizan 20 µl de esta fase por cada micro pocillo.



**Desarrollo de la prueba Elisa:** Primero que todo se deben llevar todos los reactivos del kit a temperatura ambiente entre 20- 25 grados centígrados.

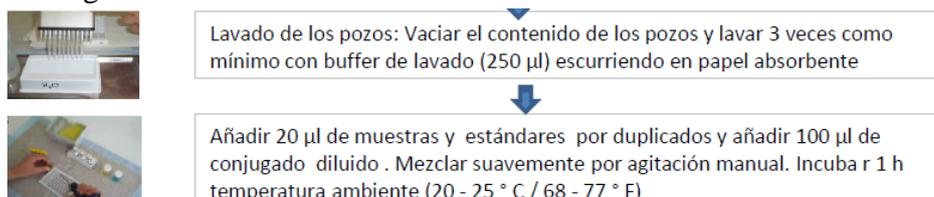
Primero que todo se debió insertar un numero de pocillos de micro titulación en el soporte de micro pocillos para todos los estándares y las muestras para realizarlas por duplicado, esto para una mayor precisión en la lectura de resultados.

Seguidamente se añadieron 100 µl de solución de anticuerpos a cada pocillo, se mezcla suavemente agitando la placa manualmente y se incuban durante 15 minutos a temperatura ambiente 20-25 grados centígrados.



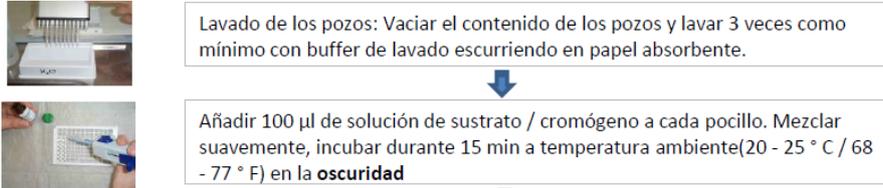
Después de esto se vertió el líquido de los pocillos y se golpeó la micro placa al revés vigorosamente contra papel absorbente para asegurar una completa eliminación de líquido en los pocillos, previamente se añadió 250 µl de buffer de lavado a cada pocillo para asegurar una limpieza total de los mismos, este proceso se realiza por triplicado para asegurar una limpieza total.

Luego de esto se añadieron 20 µl de las soluciones preparadas y estándares por duplicado, se añaden 100 µl de la solución de conjugado enzimático a cada pocillo, se mezcló suavemente agitando la placa de forma manual y se incubo durante 60 minutos a temperatura ambiente 20-25 grados centígrados.

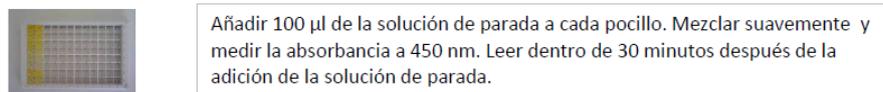


Seguidamente se realizó nuevamente el lavado de los pocillos realizando el mismo proceso de lavado anterior, este proceso se realiza por triplicado para asegurar una limpieza total de los pocillos.

Después de esto se añadieron 100 µl de solución de sustrato/cromógeno a cada uno de los pocillos, se mezcló suavemente agitando la placa manualmente y se incubó nuevamente por un tiempo de 15 minutos a temperatura ambiente 20-25 grados centígrados, en esta incubación se debió llevar las muestras a completa oscuridad.



Finalmente se agregó 100 µl de la solución de parada a cada pocillo, se mezcló suavemente agitando la placa manualmente y se mide la absorbancia a 450nm, se debe leer dentro de 30 minutos después de la adición de la solución de parada. Para la lectura de los datos se utiliza el espectrofotómetro de micro placas de titulación Elx-800 y el software RIDASOFT Win.NET, el cual el proveedor del kit nos garantiza obtener una lectura precisa del valor real en ppt de presencia de anabólicos en nuestras muestras.



**Registro de los resultados:** Se registraron los resultados obtenidos.

El tejido utilizado para la inyección de Ractopamina es diafragma, este músculo presenta alta absorción del medicamento, por lo tanto, tiende a acumular una fracción considerable de este. El proceso de verificación está soportado en primera instancia por la validación de la prueba; por tanto, se busca como información base la suministrada por el previo estudio brindado por el proveedor del KIT RIDASCREEN, de este modo se adquieren herramientas para calcular el desempeño de la prueba en las condiciones a las cuales está siendo evaluada en el Laboratorio Fisicoquímico de la Planta FRIGOCOLANTA.

Las muestras fueron contaminadas con el anabólico (Ractopamina) para garantizar que la concentración de medicamento que se deseaba estudiar fuera conocida, en este caso la composición de nuestro agente contaminante fue de Ractopamina 2% y un 98% de excipientes desconocidos los cuales no especifica el proveedor.

Una vez ejecutada la prueba de detección de anabólicos según lo descrito en la metodología, se procede con la tabulación de resultados, en este caso se realizará la tabulación de resultados de dos de los montajes realizados para la detección de Ractopamina en carne porcina, debido a que los demás montajes requieren de mayor análisis por parte de la empresa, por ende, no se autorizó su divulgación.

**Análisis de resultados:** Realizar una evaluación estadística, en este caso el valor promedio de los resultados arrojados por la prueba y el porcentaje de error teniendo como base los valores teóricos a los cuales se esperan los resultados de este proceso.

## 7. RESULTADOS Y ANALISIS

Se registraron los siguientes resultados:

### MONTAJE #1

En este montaje se realizó el análisis de dos de las soluciones planteadas en el proceso de verificación del kit las cuales son 200ppt y 0,1 ppm, siendo esta ultima la solución inicial tomada de base para las diluciones de las demás concentraciones a estudiar, cada una de estas muestras se contaminaron por duplicado, por ende, los resultados se dieron de igual manera.

Primeramente, se dan a conocer los resultados y la curva de calibración de los estándares del kit los cuales evalúan la veracidad del montaje.

Tabla#2 Resultados estándares de calibración de la prueba.

ESTANDARES	CONCENTRACION (ppt)	RESULTADO
1	0	PASO
2	100	PASO
3	300	PASO
4	900	PASO
5	2700	NO PASO
6	8100	NO PASO

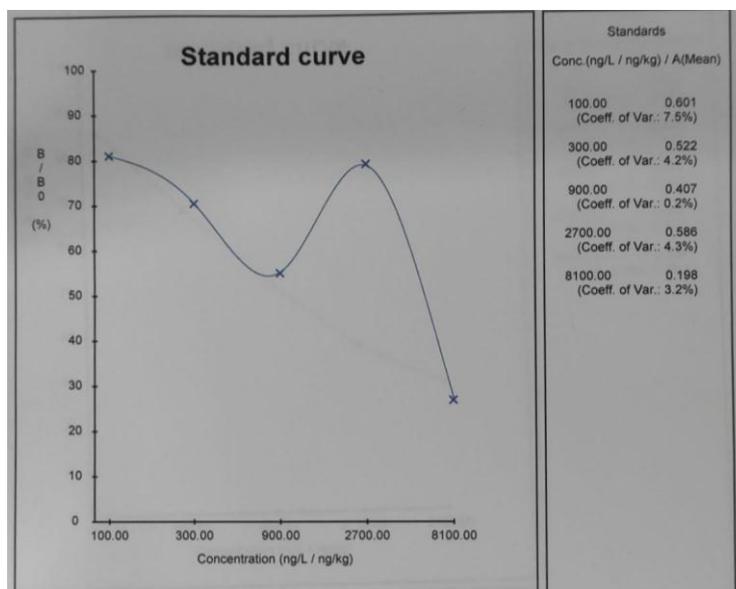


Figura #2 Curva de estandarización Montaje#1.

Analizando los resultados reflejados en la imagen#2, se puede evidenciar que el proceso de realización del ensayo no tiene una fiabilidad alta, esto como resultado de la curva de estandarización del equipo usando los estándares a las concentraciones dadas por el kit, en

donde se puede analizar que hubieron fallas en la realización del montaje y el ensayo, los cuales se mejoraron en el siguiente montaje teniendo en cuenta varios aspectos.

Seguidamente se pueden evidenciar los resultados obtenidos en el montaje #1, como se pueden ver en la tabla #3.

Tabla#3 resultados montaje#1.

MUESTRAS	CONCENTRACIONES	RESULTADO (ppt)
1	200 ppt	69,00
2	200 ppt	67,83
3	0,1 ppm	7594,9
4	0,1 ppm	7578,69

En la tabla #3 se pueden evidenciar los resultados del montaje #1 siendo las muestras 1 y 2 los resultados de las muestras contaminadas a 200ppt y las muestras 3 y 4 los resultados de las muestras contaminadas a 0,1ppm.

Teniendo los resultados del montaje, se procede a realizar el cálculo estadístico de promedio de muestras y porcentaje de error los cuales se pueden ver a continuación en la tabla #4.

Tabla#4 resultado valores promedio de muestras y porcentaje de error.

MUESTRAS	PROMEDIO (ppt)	% error
200 ppt	68,415	65,79
0,1 ppm	7586,795	6,34

Teniendo en cuenta los resultados reflejados en la tabla #4 se pudo indagar al respecto, teniendo en cuenta el porcentaje de error de la muestra contaminada a 0,1 ppm, debido a que se tiene como valor teórico a esta concentración contaminada un valor <8100 ppt, el cual no podemos decir que es un resultado verídico ya que no nos refleja un resultado preciso ni exacto de la concentración contaminada.

## **MONTAJE #2**

En este montaje se realizó el análisis de dos de las soluciones planteadas en el proceso de verificación del kit las cuales son 200ppt y 0,1 ppm, siendo esta ultima la solución inicial tomada de base para las diluciones de las demás concentraciones a estudiar, cada una de estas muestras se contaminaron por duplicado, por ende, los resultados se dieron de igual manera.

Primeramente, se dan a conocer los resultados y la curva de calibración de los estándares del kit los cuales evalúan la veracidad de nuestro montaje.

Tabla#5 Resultados estándares de calibración de la prueba.

ESTANDARES	CONCENTRACION (ppt)	RESULTADO
1	0	PASO
2	100	PASO
3	300	PASO
4	900	PASO
5	2700	PASO
6	8100	NO PASO

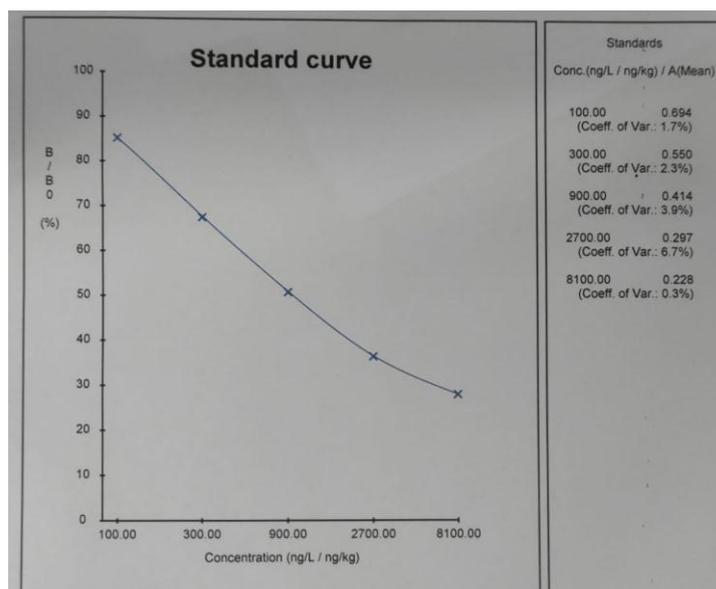


Figura #3 Curva de estandarización Montaje#2.

Analizando los resultados reflejados en la imagen#3, se puede evidenciar que el proceso de realización del ensayo tiene fiabilidad, esto como resultado de la curva de estandarización del equipo usando los estándares a las concentraciones dadas por el kit.

Seguidamente se pueden evidenciar los resultados obtenidos en el montaje #2, como se pueden ver en la tabla #6.

Tabla#6 resultados montaje#2.

MUESTRAS	CONCENTRACIONES	RESULTADO (ppt)
1	200 ppt	70,5
2	200 ppt	85,5
3	0,1 ppm	>8100
4	0,1 ppm	>8100

En la tabla #6 se pueden evidenciar los resultados del montaje #2 siendo las muestras 1 y 2 los resultados de las muestras contaminadas a 200ppt y las muestras 3 y 4 los resultados de las muestras contaminadas a 0,1ppm.

Teniendo los resultados del montaje, se procede a realizar el cálculo estadístico de promedio de muestras y porcentaje de error los cuales se pueden ver a continuación en la tabla #7.

Tabla#7 Resultado valores promedio de muestras y porcentaje de error.

MUESTRAS	PROMEDIO (ppt)	% error
200 ppt	78	61
0,1 ppm	8100	0

Teniendo en cuenta los resultados reflejados en la tabla #7 se pudo indagar al respecto, teniendo en cuenta el porcentaje de error de la muestra contaminada a 0,1 ppm, debido a que se tiene como valor teórico a esta concentración contaminada un valor <8100 ppt, el cual no podemos decir que es un resultado verídico ya que no nos refleja un resultado preciso ni exacto de la concentración contaminada.

Finalmente teniendo en cuenta los resultados anteriormente expuestos en los montajes #1 y #2 en este proceso de verificación del kit RIDASCREEN RACTOPAMIN podemos analizar:

Los resultados obtenidos presentan un porcentaje de error alto, comparando con los valores teóricos esperados en la contaminación de cada una de las muestras anteriormente planteadas, estos resultados se ven reflejados a los siguientes aspectos analizados durante la realización del proyecto:

- El reactivo suministrado por la empresa para la preparación de las soluciones contiene una composición de un 98% de excipientes y un 2% de Ractopamina, dichos excipientes no son especificados por el proveedor, siendo este un limitante debido a que, no se conoce si estos excipientes por su composición pueden tener afectación en el proceso de realización del proceso de verificación.
- No se cuenta con la veracidad que los equipos usados en el proceso de desarrollo de la verificación del kit se encuentren correctamente calibrados, lo cual dificulto un poco la toma de las muestras debido a la sensibilidad de los equipos para la toma de los mismos.
- Otro aspecto no menos importante en la realización del proceso, es que no se cuenta con la fiabilidad de que equipos usados durante el proceso de desarrollo de la prueba, cuenten con una desinfección rigurosa, entre toma de datos, ya que puede existir una contaminación directa en lecturas anteriores debido al uso de estos equipos en el laboratorio Físico-químico de la empresa.

## **8. RECOMENDACIONES**

Teniendo en cuenta el análisis anteriormente expuesto se recomiendan los siguientes puntos a tener en cuenta para continuar con el proceso de verificación del kit RIDASCREEN RACTOPAMIN:

- Teniendo en cuenta que la composición de nuestro agente contaminante, contiene un mayor porcentaje de excipientes(desconocidos) a comparación con el porcentaje de Ractopamina, se debe tener en cuenta que este producto de uso veterinario generalmente viene dado en concentrados animales, ingeridos por los mismos, debido a esto se debe estudiar el medio en el cual el metabolismo animal recibe directamente este anabólico, teniendo como recomendación investigar a profundidad la simulación de un medio de cultivo estudiando la temperatura a la cual se da la absorción de este producto en medio natural, para con ello poder realizar una simulación de este medio de cultivo y poder garantizar una mayor veracidad en la preparación de las diluciones, con estas mismas realizar la contaminación directa de las muestras de productos cárnicos y poder obtener resultados verídicos en el proceso de verificación del kit.
- Realizar la inspección de calibración y sensibilidad de cada uno de los equipos utilizados durante el desarrollo de esta prueba de laboratorio, para obtener resultados más confiables y certeros durante el proceso de verificación.
- Realizar una desinfección exhaustiva de cada uno de los equipos de laboratorio utilizados durante la realización de la prueba ya que, en la lectura de diferentes muestras puede existir una contaminación directa de cada uno de estos equipos y esto nos afecta en los resultados anteriormente expuestos en nuestro proceso de verificación, con base a esto se recomienda realizar una mejora en el proceso de desinfección de los equipos ya que la empresa tiene estipulado su plan de desinfección de y se desea mejorar este proceso.

## **9. CONCLUSIONES**

-No se pudo cumplir con el objetivo principal de este proyecto, el cual fue verificar el kit RIDASCREEN RACTOPAMIN debido a los resultados anteriormente expuestos, ya que con los resultados obtenidos no es posible conocer la veracidad de dicho kit teniendo en cuenta las afectaciones que se presentaron durante este proceso de verificación de este método analítico.

-Se deben realizar las correcciones pertinentes en cuanto a calibración y desinfección de los equipos para poder de esta manera contar con mayor certeza en cuanto a fiabilidad de los mismos.

-Tener en cuenta las recomendaciones anteriormente expuestas para continuar con la investigación y con el proceso de verificación del kit ya que para la COOPERATIVA COLANTA es de suma importancia poder contar con resultados 100% confiables en la detección de medicamentos de uso veterinario.

## 10.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- R.G. Main, DVM, PhD; S.S. Dritz, DVM, PhD; D. Tockach, MS, PhD; R.D. Goodband, MS PhD; J.L. Nelssen, MS, PhD; J.M. DeRouchey, MS, PhD. Effects of ractopamine Hcl dose and treatment period on pig performance in a commercial finishing facility Journal of Swine Health and Production – May and June 2009.

- R. M Barker., MS; S.S Dritz., DVM, PhD; D.M Tokach., PhD; R. D. Goodband, PhD; Grosebeck N. C., MS.. Effects of ractopamine HCl on grown performance and within-pen weight variation in finishing pigs Journal of Swine Health and Production – November and December 2005.

-Casa Yajamin, Daniela Augusta; Jiménez Valdiviezo, Milton James (2013). Uso de ractopamina en cerdos en la fase de finalización, para mejorar los parámetros productivos. Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista. Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito: UCE. 56 p.

- Norma ISO 16140-3. (2017) Protocol for the verification of reference and validated alternative methods implemented in a single laboratory. Cap 5. Pag 15-17.

- Salud Capital. Lineamientos técnicos para la estandarización y validación de métodos de ensayo.

<http://www.saludcapital.gov.co/CTDLab/Publicaciones/2015/Lineamiento%20montaje%20estandarizacion%20y%20validacion.pdf>. Consultada Diciembre/2020.

- Cooperativa Colanta. <https://colanta.com/corporativo/historia/>. Consultada Marzo/2021.