
Estabilidad de sulfametazina en carne y productos cárnicos de cerdo tratados térmicamente

Stability of sulfamethazine in pork and thermally treated swine meat products

Haydé Hayamaí González Carrillo*
Angélica Espinosa Plascencia*
Germán Cumplido Barbeitia*
María del Carmen Bermúdez Almada**

Abstract

The present study was conducted to examine the effects of cooking on sulfamethazine residues in pork meat and meat products. Pork meat from four pigs fed on commercial diets containing a 110 mg sulfamethazine/kg dose and that of two control pigs was subjected to several thermal processes. Two meat products (ham and pork sausage) were obtained and two cooking processes (boiling and frying) were studied. Antibiotic analysis by high performance liquid chromatography was performed prior to and following the thermal process. No statistical difference ($P > 0.05$) was found between the concentration of sulfamethazine in raw and cooked tissues, except in the case of ham. The results provide useful information in estimating potential exposure to sulfamethazine residues from ingestion of cooked meat containing the antibiotic.

Key words: SULFAMETHAZINE, THERMAL STABILITY, COOKING, PORK.

Resumen

El presente estudio se llevó a cabo para determinar el efecto del cocinado en los residuos de sulfametazina en carne y productos cárnicos de porcino. El material cárnico obtenido de cuatro cerdos alimentados con dieta comercial, adicionada con 110 mg/kg de sulfametazina y de dos cerdos utilizados como testigos, se sometió a diferentes tratamientos térmicos. Se elaboraron dos productos cárnicos (jamón y salchichas) y se estudiaron dos tratamientos de cocción (hervido y freído). Los análisis de sulfametazina se realizaron por cromatografía líquida de alta resolución con detección ultravioleta, antes y después de la aplicación de los tratamientos térmicos en los tejidos de cada cerdo. El análisis estadístico mostró que no existe diferencia significativa ($P > 0.05$) entre la concentración de sulfametazina residual encontrada en tejidos crudos y cocidos, excepto en el caso de los jamones. Los resultados proporcionan información útil sobre la estimación de la exposición potencial del consumidor a los residuos de sulfametazina por la ingestión de carne de porcino cocinada que contiene el antibiótico.

Palabras clave: SULFAMETAZINA, ESTABILIDAD TÉRMICA, COCCIÓN, CERDO.

Recibido el 19 de septiembre de 2003 y aceptado el 16 de marzo de 2004.

* Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., Coordinación de Ciencia de los Alimentos, Apartado Postal 1735, C. P. 83000, Hermosillo, Sonora, México, Tel. (662)289-24-00 Fax (662)280-00-58.

** Correspondencia: cbermudez@cascabel.ciad.mx

Introduction

The sulfonamides are synthetic antibiotics that have been in use, since 1932, to reduce infectious diseases and mortality in humans and animals. It is believed that sulfonamides promote animal growth and improve feeding efficiency, and therefore they are used mainly at sub-therapeutic levels in animal diets.^{1,2}

The adverse effects of sulfonamides include hypersensitivity, development of bacterial resistance, effect on the hematopoietic system and problems in the nervous system as well as the urinary tract.³ Experimentally, sulfamethazine produces follicular cellular adenomas in the thyroid gland of rats.²

Within this antibiotic family, sulfamethazine (SMZ) is the one that is most used, and it has been identified as the one that has more capacity to produce residues in animal tissues.⁴ In the north-western region of Mexico, 7% of swine tissues analysed during the last decade have resulted positive to sulfonamides, and amongst these, sulfamethazine predominated.⁵

Regulating agencies of several countries, amongst them Mexico, have established a maximum residual value of 0.1 mg of sulfamethazine/kg of tissue, as a maximum tolerance limit.^{6,7} Also, in the United States of America, the withdrawal period for SMZ is established at 15 days.⁸

The studies made on SMZ have been mainly performed in raw meat; due to the scarcity of valid studies, the magnitude of the sulfamethazine residue problem, in food for human consumption is unknown. Meat can be sent directly for human consumption after a thermal treatment, or it can be used as raw material for the production of by-products.⁷ During temperature changes, the components of meat suffer modifications that could affect the final level or concentration of residual sulfamethazine. The studies that have been performed up until now have been limited, and have been performed during a relatively short period of time, most of them have used samples to which SMZ was added to the tissue *in vitro* and were not *in vivo* studies.⁹

In this study, the effect of thermal treatments on the final residual sulfamethazine level was determined through two cooking techniques that are commonly used: boiling and frying; as well as in the preparation of two types of meat products: sausages and hams. The muscle tissues that were used in all the tests were obtained from pigs that were fed with a commercial diet, added with sulfamethazine at a concentration similar to that which is used in veterinary practice within the swine industry, and that is the permitted level in the United States of America.¹⁰ In

Introducción

Las sulfonamidas son antibióticos sintéticos que se han utilizado desde 1932 en la reducción de enfermedades infecciosas y mortalidad en humanos y animales. Se cree que las sulfonamidas promueven el crecimiento animal y mejoran la eficiencia alimentaria, por lo que se emplean principalmente como aditivos a niveles subterapéuticos en las dietas de los animales.^{1,2}

Los efectos adversos de las sulfonamidas abarcan reacciones de hipersensibilidad, desarrollo de resistencia bacteriana, efecto en el sistema hematopoyético y problemas en el sistema nervioso y tracto urinario.³ Experimentalmente, la sulfametazina produce adenomas celulares foliculares en la glándula tiroides en ratas.²

Dentro de esta familia de antibióticos, la sulfametazina (SMZ) representa una de las más empleadas, además de que se le ha identificado como la de mayor residualidad en tejidos animales.⁴ En la región noroeste de México, 7% de los tejidos porcinos analizados en la última década resultaron positivos a sulfonamidas, entre éstas predominó la sulfametazina.⁵

Las agencias reguladoras de diversos países, entre ellos México, han establecido un valor máximo residual de 0.1 mg de sulfametazina/kg de tejido, como límite de tolerancia.^{6,7} Asimismo, en Estados Unidos de América se establece un tiempo de retiro para SMZ de 15 días.⁸

Los estudios sobre SMZ se han llevado a cabo principalmente en carne cruda, debido a los escasos estudios válidos se desconoce la magnitud del problema de los residuos de sulfametazina en los alimentos de consumo humano. La carne puede destinarse al consumo directo tras aplicarle un tratamiento térmico, o usarse como materia prima en la fabricación de subproductos.⁷ Durante los cambios de temperatura, los componentes de la carne sufren modificaciones que podrían afectar el nivel o concentración de sulfametazina residual final. Los estudios efectuados a la fecha son limitados y se han realizado durante un periodo relativamente corto, la gran mayoría se han llevado a cabo en muestras a las que se les adicionó la SMZ en el tejido *in vitro* y no en estudios *in vivo*.⁹

En el presente trabajo se estableció el efecto de los tratamientos térmicos sobre la concentración de sulfametazina residual final, mediante dos técnicas de cocinado usadas comúnmente: hervido y freído, así como en la elaboración de dos tipos de productos cárnicos: salchichas y jamones. Los tejidos musculares utilizados en todas las pruebas se obtuvieron de cerdos alimentados con dieta comercial adicionada

Mexico, there are no regulations related to antibiotic doses that can be added to animal feed, and therefore this study was done in order to know the effect of thermal treatments and the meat product manufacture on the maintenance of SMZ levels, in swine muscle.

Material and methods

Bioassay

Six female and male Large White pigs were used, they had an initial average weight of 40 ± 5 kg, and were randomly kept in pairs in three pens. Two pigs were used as controls and received a diet free from antibiotics, the other pigs received a diet with SMZ added at a concentration of 110 mg/kg, during a ten day period. After the period of antibiotic administration, the six pigs, with a final average weight of 55 ± 5 kg were slaughtered, the primary cuts were performed and samples were selected and stored at -20°C until their analysis.

Treatments

For the boiling test, pieces of leg weighing 380 g per each pig, were subjected to cooking in water. During this treatment the cooking temperature was controlled by the use of a thermopar,* with a 0-150°C scale. The meat was considered cooked and withdrawn from the water, once it reached an internal temperature of 72°C , which occurred after 25 min.

For the frying test, pieces of pig leg, weighing 360 g were subjected to the frying process in 2 L of sunflower oil at 180°C . For this procedure a T-Fal fryer** was used. The cooking temperature was assessed by a thermometer of the same characteristics described above. The treatment was applied during 12 min, until the meat reached an internal temperature of 80°C .

Hams were prepared with the legs and loins of the pigs, re-structured with the following composition: pork, 55%; water-ice, 39%; salt, 1.5%; sodium nitrite, 0.25%; sugar, 1%; phosphates, 0.5%; sodium erythorbate, 0.2%; hydrolysed soy protein, 2%; spices and flavoring agents, 0.46%. For this process, the meat was ground; then brine, prepared with the rest of the ingredients, was added and finally it was placed in the kneader. After that, the sausages were filled in a number 8 calibre mesh and were cooked in a smoke oven* during 5.5 h, until the temperature of 72°C was reached. The hams were cooled off and stored in a freezer until the respective analysis were performed.

For the traditional process of sausage preparation the following ingredients were used: pork (shoulder

con sulfametazina en concentración similar a la empleada en las prácticas veterinarias dentro de la industria porcina, que son los niveles permitidos en Estados Unidos de América.¹⁰ En México no se cuenta con regulaciones respecto de las dosis de antibióticos que pueden adicionarse en el alimento para animales, por lo que se realizó el presente estudio a fin de conocer el efecto de los tratamientos térmicos y de la elaboración de productos cárnicos en el mantenimiento de los niveles de SMZ en músculo de porcino.

Material y métodos

Bioensayo

Se emplearon seis cerdos hembras y machos de la raza Large White, con peso inicial promedio de 40 ± 5 kg, que se alojaron en parejas de manera aleatoria en tres corraletas; dos cerdos se usaron como testigos y recibieron una dieta libre de antibióticos, a los otros cerdos se les administró una dieta adicionada con SMZ a concentración de 110 mg/kg, durante un periodo de diez días. Transcurrido el tiempo de la administración del antibiótico, los seis cerdos con peso final promedio de 55 ± 5 kg se sacrificaron, se efectuaron los cortes primarios, se seleccionaron las muestras y se almacenaron a -20°C hasta su análisis.

Tratamientos

Para la prueba de hervido se obtuvieron trozos de pierna de 380 g de peso por cada cerdo, que se sometieron al proceso de cocción en agua. Durante este tratamiento se controló la temperatura de cocción empleando un termopar,* con escala de 0-150°C. La carne se consideró cocida y se retiró del agua al alcanzar una temperatura interna de 72°C , lo cual sucedió en 25 min.

Para la prueba de freído, porciones de pierna de cerdo de 360 g se sometieron al proceso de freído con 2 L de aceite de girasol a 180°C . Para este procedimiento se empleó una freidora T-Fal.** Se evaluó la temperatura de cocción con un termómetro de las características anteriormente descritas. El tratamiento se aplicó por 12 min, hasta que la carne alcanzó una temperatura interna de 80°C .

Con las piernas y el lomo de los cerdos se elaboraron jamones reestructurados con la siguiente composición: carne de cerdo, 55%; agua-hielo, 39%; sal, 1.5%; nitrito de sodio, 0.25%; azúcar, 1%; fosfatos, 0.5%; eritorbato de sodio, 0.2%; proteína hidrolizada de soya, 2%; especias y saborizantes, 0.46%. Para

* Taylor, Precision Products, LP 6097-1, USA.

** T-Fal.Fry Expert Mod. 618239, México, D. F.

and bacon), 50%; water-ice, 34%; beef fat, 10%; salt, 1.5%; sodium nitrite, 0.25%; sugar, 0.5%; phosphates, 0.5%; sodium erythorbate, 0.2%, hydrolyzed soy protein, 2%; spices and seasoning, 1.05%. The meat was ground and after that an emulsion was prepared in an automatic vacuum cutter, where water-ice, fat and the rest of the ingredients were added, then the emulsion was taken to 13-18°C.

The prepared emulsion was stuffed into transparent casings and were cooked in a smoke oven* until the pieces reached a temperature of 70°C in 70 min. After that, they were cooled and stored at -20°C until they were analyzed.

Humidity analysis

The raw tissue and treated samples were subjected to humidity analysis in triplicate, using the official established method.¹¹ This determination was performed in order to adjust the residual sulfamethazine concentration data in raw and processed tissue to be on the same basis. That way, the variability, between samples due to the loss of water during treatment, is eliminated.

Extraction of sulfamethazine

SMZ was extracted from tissues, using the extraction method of Long *et al.*,¹² modified by Bermudez *et al.*,⁶ that is based on the principle of solid phase matrix dispersal. 0.5 g of tissue was weighed and 5 µL of methanol were added and homogenized with 2 g of C₁₈ (derivatized octadecilsilan silica gel). The homogenized product was placed in a 10 ml plastic syringe with filter paper at the bottom and top of the matrix, after that, it was compacted with a glass rod. It was washed with 10 mL of hexane and the SMZ was eluted with 15 mL of dichloride-methane, both solvents at reagent grade. The solvent was taken to total dryness by means of a controlled temperature at 40°C, water bath, with a constant airflow. Once the extract was dry, it was reconstituted with 1 mL of 0.017 M phosphoric acid: acetonitrile (95:5, v/v) solution, and it was maintained in an ultrasound equipment during 15 min.* The sample then was passed through an "acrodisc" filter,** with a 0.2 µm pore size connected with a 3 mL plastic syringe.

In order to insure the quality of the results obtained in the sulfamethazine analysis, each day of work included a sample added with sulfamethazine at a concentration of 3.2 µg/g, that was treated in the same manner as the other samples in order to estimate the recovery percentage (exactness) of the sample being studied.

llevar a cabo el proceso, la carne se sometió a molienda, se le adicionó salmuera preparada con el resto de los ingredientes y se colocó en una masajeadora. Posteriormente se embutió en una malla de calibre número 8 y se horneó en un horno ahumador* durante 5.5 h, hasta alcanzar una temperatura de 72°C. Los jamones se enfriaron y almacenaron en congelación hasta llevar a cabo los análisis correspondientes.

Para el proceso tradicional de elaboración de salchichas se usó: carne de cerdo (espaldilla y tocino), 50%; agua-hielo, 34%; grasa de res, 10%; sal, 1.5%; nitrito de sodio, 0.25%; azúcar, 0.5%; fosfatos, 0.5%; eritorbato de sodio, 0.2%, proteína hidrolizada de soya, 2%; especias y condimentos, 1.05%. La carne se sometió a molienda y posteriormente se elaboró una emulsión en una cortadora con vacío automático en donde a la carne se le adicionó agua/hielo, grasa y el resto de los ingredientes, la emulsión se llevó de 13 a 18°C.

La emulsión preparada se embutió en fundas transparentes y se cocinaron en un horno ahumador* hasta que las piezas alcanzaron una temperatura de 70°C en 70 min. Posteriormente se enfriaron y almacenaron a -20°C hasta su análisis.

Análisis de humedad

Las muestras de tejido crudo y de los tratamientos se sometieron a análisis de humedad por triplicado, mediante el método oficial establecido.¹¹ Esta determinación se llevó a cabo con la finalidad de ajustar los datos de la concentración de sulfametazina residual en el tejido crudo y los procesados térmicamente sobre una misma base. Así se elimina la variabilidad entre las muestras, debido a la pérdida de agua que ocurre durante el tratamiento térmico.

Extracción de sulfametazina

De acuerdo con el método de extracción de Long *et al.*,¹² modificado por Bermúdez *et al.*,⁶ que se basa en el principio de dispersión de matriz en fase sólida, se extrajo la SMZ de los tejidos. Se pesaron 0.5 g de tejido a los que se adicionaron 5 µL de metanol y se homogeneizaron con 2 g de C₁₈ (sílica gel octadecilsilano derivatizada). El producto homogeneizado se colocó dentro de una jeringa de plástico de 10 mL con papel filtro en la parte inferior y superior de la matriz, posteriormente se compactó con una varilla de vidrio. Se realizó un lavado con 10 mL de hexano y la SMZ se eluyó con 15 mL de diclorometano, ambos solventes fueron grado reactivo.

* Enviro-Pak Mod. CVU350, Portland, Oregon, USA.

Sulfamethazine detection and quantification by high performance liquid chromatography

The determination of SMZ was performed by liquid chromatography in reverse phase, using an econospheric column 15 cm length and 4.6 mm of internal diameter, packed with octadecilsilan (C_{18}), with a particle size of 5 μm . For this purpose a liquid chromatograph,^{***} equipped with a visible ultraviolet detector[†] was used with a wave length of 270 nm. The mobile phase was constituted with 0.017M phosphoric acid-acetonitrile (95:5, v/v) solution, in a gradient flow of 1 mL/min.

Statistical analysis

The frying and boiling treatments of the meat products results were analyzed using a completely random blocks design, where the pigs were the blocks and the variable responses, the treatments. The statistical analysis used for boiling and frying was a two way variance analysis at a 0.05 significance. The confirmation of the results was done through the Kruskal-Wallis non parametric test. For the meat products, the "t" paired test was applied and the confirmation of the results was obtained through the Wilcoxon non parametric paired ranges with signs test.

In order to process the data, the statistical program Number Cruncher Statistical Systems 2000 (NCSS)¹³ was used.

Results

The concentration of the antibiotic was determined by comparison with a reference standard at a concentration of 3.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, with a minimum limit of detection of 0.88 ng/mL and of quantification of 2.5 ng/g .

Initial sulfamethazine analysis in swine muscle

Immediately after the slaughter of the animals SMZ residue levels, accumulated in the muscles of the four pigs that had the diet with SMZ, were quantified; the same determinations were made in the two control pigs. It was observed that the SMZ levels in the muscles of the four pigs that received the diet added with SMZ, were above the maximum limit allowed of 0.1 $\mu\text{g}/\text{g}$, according to the Mexican Official Norm.⁷ The average dry matter value of sulfamethazine obtained from the four pigs was 2.81 $\mu\text{g}/\text{g}$. The control pigs (fed with a diet free of SMZ) did not show antibiotic residue in their tissues and these samples were used as negative controls in the SMZ determinations.

El solvente se llevó a sequedad total mediante baño de agua con temperatura controlada a 40°C y flujo de aire constante. Una vez seco el extracto, se reconstituyó con 1 mL de una solución de ácido fosfórico 0.017 M: acetonitrilo (95:5, v/v), y se mantuvo durante 15 min en un equipo de ultrasonido.* La muestra se pasó a través de un filtro *acrodisc*,** con tamaño de poro de 0.2 μm conectado a una jeringa de plástico de 3 mL.

Con el propósito de asegurar la calidad de los resultados obtenidos en el análisis de sulfametazina, cada día de trabajo se incluyó una muestra adicionada con sulfametazina en concentración de 3.2 $\mu\text{g}/\text{g}$, que fue tratada igual que las otras muestras con el fin de calcular el porcentaje de recuperación (exactitud) del analito en estudio.

Detección y cuantificación de sulfametazina por cromatografía de líquidos de alta resolución

La determinación de SMZ se realizó mediante cromatografía de líquidos en fase reversa, empleando una columna econosférica de 15 cm de longitud \times 4.6 mm de diámetro interno, empacada con octadecilsilano (C_{18}), con tamaño de partícula de 5 μm . Para este fin se usó un cromatógrafo de líquidos^{***} equipado con un detector ultravioleta visible,[†] con longitud de onda de 270 nm. La fase móvil estuvo constituida por ácido fosfórico 0.017M-acetonitrilo (95:5, v/v), en flujo de gradiente a 1 mL/min.

Análisis estadístico

Los resultados de los tratamientos de freído, hervido y de los productos cárnicos, se analizaron empleando un diseño de bloques completamente al azar, siendo los cerdos los bloques y la variable respuesta los tratamientos. El análisis estadístico utilizado para hervido y freído fue un análisis de varianza de dos vías a una significancia de 0.05. La confirmación de los resultados se realizó mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Para los productos cárnicos se aplicó una prueba de "t" pareada, y la confirmación de los resultados se realizó mediante la prueba no paramétrica pareada de rangos con signos de Wilcoxon.

Para procesar los datos se utilizó el programa estadístico Number Cruncher Statistical Systems 2000 (NCSS).¹³

* Cole-Parmer, Mod. 8892, Niles, IL.,USA.

** LC13 PVDF, Fisher Scientific, Pittsburg, PA,USA.

*** Varian Mod. 9010. Palo Alto, CA, USA.

† Varian UV-Vis Mod. 9050. Palo Alto, CA, USA.

Effect of the thermal treatments

In Tables 1, 2 and 3 the corrected dry matter SMZ values are shown. Also the recovery percentages that were determined in order to insure the quality of the results that were obtained, are shown.

Boiling and frying

The average value of SMZ in raw tissues, before the application of thermal treatments, was 2.81 µg/g. After the frying treatment the average concentration was 3.22 µg/g and after the boiling treatment the average value was 2.83 µg/g (Table 1). Statistically, no significant differences were observed ($P > 0.05$) between the thermal treatments and the raw tissue. The previous results were confirmed through the non parametric Kruskal-Wallis test.

In Figure 1a, a chromatogram, that was obtained from a sample of pig muscle that contained residual SMZ and that was subjected to thermal treatment by cooking in water (boiling) is shown. Here it can be seen that there is a peak with a retention time of 14 minutes, that corresponds to sulfamethazine, this is in agreement with the one obtained with the standard one (Figure 1b).

Sausages (ham and sausage)

It was observed that the raw tissue that is used for the production of hams had a SMZ average concentration of 1.73 µg/g that was significantly higher ($P < 0.05$), when compared to the average concentration found in the finished product, 1.32 µg/g (Table 2). In sausages, the average concentration of sulfamethazine found in the emulsion for the manufacture of the product was 0.85 µg/g and after the baking process, the average level was 0.96 µg/g. The statistic tests showed that, in this case, there was no significant dif-

Resultados

La concentración del antibiótico se determinó mediante comparación con un estándar de referencia a una concentración de 3.2 µg/mL, con límite mínimo de detección de 0.88 ng/mL y de cuantificación de 2.5 ng/g.

Análisis inicial de sulfametazina en músculo de cerdo

Inmediatamente después del sacrificio de los animales se realizó la cuantificación de los niveles de residuos de SMZ, acumulados en los músculos de los cuatro cerdos sometidos a la dieta con SMZ; asimismo, se hizo la determinación en músculo de los dos cerdos testigos. Se observó que los niveles de SMZ en músculo de los cuatro cerdos que recibieron la dieta adicionada con SMZ, estuvieron por encima del límite máximo permitido de 0.1 µg/g, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana.⁷ El valor promedio de sulfametazina obtenido de los cuatro cerdos fue de 2.81 µg/g en base seca. Los cerdos testigos (alimentados con la dieta libre de SMZ) no presentaron residuos del antibiótico en sus tejidos y estas muestras se emplearon como testigos negativos en las determinaciones de SMZ.

Efecto de los tratamientos térmicos

En los Cuadros 1, 2 y 3 se presentan los valores de SMZ corregidos con base en la materia seca. También se muestran los porcentajes de recuperación, determinados con la finalidad de asegurar la calidad de los resultados obtenidos.

Hervido y freído

El valor promedio de SMZ en los tejidos crudos antes de la aplicación de los tratamientos térmicos fue

Cuadro 1

CONCENTRACIÓN DE SULFAMETAZINA (µg/g) EN TEJIDOS DE CERDO ANTES Y DESPUÉS DE SOMETERLOS A LOS TRATAMIENTOS TÉRMICOS
SULPHAMETHAZINE CONCENTRATION (µg/g) IN PIG TISSUE BEFORE AND AFTER THERMAL TREATMENT

Sample	Raw	Fried	Boiled
1	2.19	2.64	2.83
2	2.04	3.12	1.88
3	3.55	3.46	3.39
4	3.48	3.68	3.23
X ± DE	2.81 ± 0.70	3.22 ± 0.39	2.83 ± 0.58

There is no significant difference ($P > 0.05$)

Average recovery: 95% ± 13.8%

The results are expressed on a dry matter basis

ference ($P > 0.05$), this result was confirmed through the non parametric statistics test (Table 3).

The recovery percentages that were obtained of SMZ in all samples of the different treatments were within the acceptable range that has been established for these methods: 80% to 110 % of recovery.¹⁴

Discussion

Residual sulfamethazine contained in raw tissues showed variable initial values between different animals, due to the variability between organisms, this aspect has been documented for different species.¹⁵ Nevertheless, these concentrations remained mostly stable with the different treatments.

The stability that was found was similar to that which was described by Fischer *et al.*,⁴ after subjecting pork, contaminated with intra-muscular doses of sulfamethazine, to different thermal treatments. The conclusion was that the antibiotic is stable at high temperatures.

de 2.81 $\mu\text{g/g}$. Después del tratamiento de freído la concentración promedio fue de 3.22 $\mu\text{g/g}$ y después del hervido el valor promedio fue de 2.83 $\mu\text{g/g}$ (Cuadro 1). Estadísticamente no se apreciaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos térmicos y el tejido crudo. Asimismo, mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis se confirmó el resultado anterior.

En la Figura 1a se muestra un cromatograma obtenido de una muestra de músculo de cerdo que contenía SMZ residual sometida al tratamiento térmico de cocción en agua (hervido). En él se observa un pico con un tiempo de retención de 14 minutos, correspondiente a sulfametazina, éste concuerda con el obtenido en el estándar (Figura 1b).

Embutidos (jamón y salchicha)

Se observó que el tejido crudo empleado para la elaboración de los jamones presentó una concentración promedio de SMZ de 1.73 $\mu\text{g/g}$ y fue

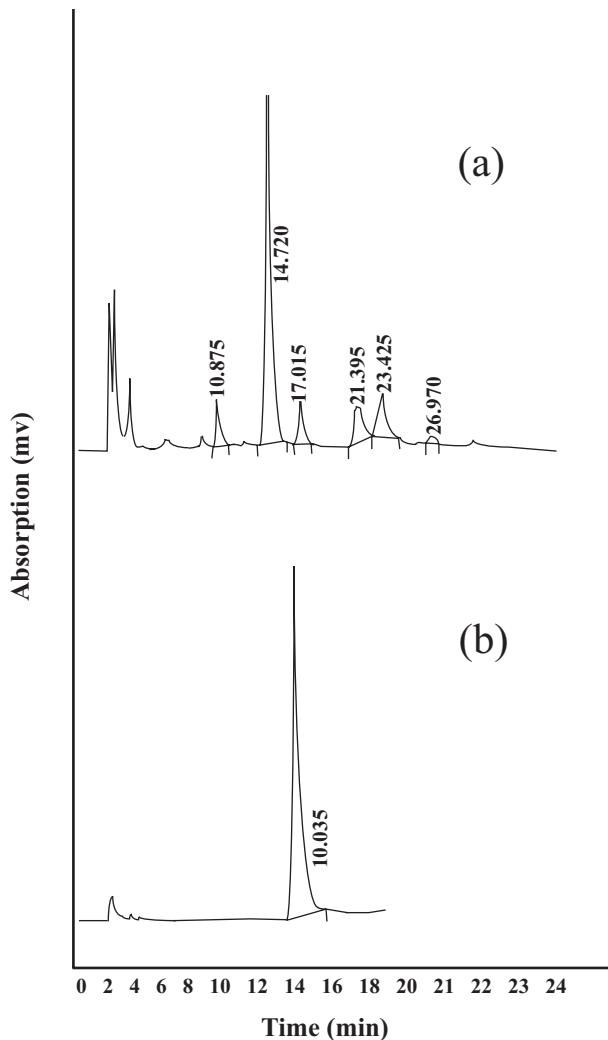


Figura 1. Cromatogramas de (a) una muestra de tejido de cerdo (pierna) después del proceso de hervido y de (b) un estándar de sulfametazina con una concentración de 3.2 $\mu\text{g/mL}$
Chromatograms of (a) a sample of pig tissue (leg) after boiling processing and (b) a sulphamethazine standard at a 3.2 $\mu\text{g/mL}$ concentration.

The reduction in SMZ levels that was observed in prepared hams, in relationship with the detected values observed in raw tissue, is attributed mainly to the effect that was caused by the combination of heating and the addition of nitrite salts, that favored the formation of SMZ derivatives, this aspect has been mentioned by Epstein *et al.*¹⁶

Other studies, such as the one by Rose *et al.*¹⁷ and Sanchez *et al.*,¹⁸ support the results that have been obtained. These authors worked in different conditions to the ones used in this study. Nevertheless, they observed that SMZ added by an artificial manner to the pig's tissue¹⁷ or that which is contained in bovine tissue,¹⁸ was maintained stable while subjected to different thermal treatments. The stability of the antibiotic, that is observed during the different changes of temperature, indicates that the consumer is exposed to SMZ concentrations that are similar to the levels contained in raw tissue, which can represent a serious risk to the general population, and therefore it underlines the importance of maintaining sulfamethazine levels in pork, at least, below the maximum limits allowed by the standards.

Acknowledgments

We thank the National Science and Technology Coun-

significativamente ($P < 0.05$) más alta, comparada con la concentración promedio encontrada en el producto terminado, 1.32 $\mu\text{g/g}$ (Cuadro 2). En las salchichas la concentración promedio de sulfametazina obtenida en la emulsión para la elaboración del producto fue de 0.85 $\mu\text{g/g}$ y después del proceso de horneado el nivel promedio fue de 0.96 $\mu\text{g/g}$. El estadístico de prueba mostró que en este caso no hubo diferencia significativa ($P > 0.05$), este resultado se confirmó mediante la prueba estadística no paramétrica (Cuadro 3).

Los porcentajes de recuperación obtenidos en todas las determinaciones de SMZ en las muestras con distintos tratamientos estuvieron dentro del rango de aceptabilidad establecido para estos métodos: 80% a 110% de recuperación.¹⁴

Discusión

La sulfametazina residual contenida en los tejidos crudos mostró valores iniciales variables entre los diferentes animales, debido a la propia variabilidad entre organismos, ese aspecto está documentado para distintas especies.¹⁵ Sin embargo, estas concentraciones se mantuvieron estables en su mayoría ante los diferentes tratamientos.

La estabilidad encontrada fue similar a la descrita

Cuadro 2

CONCENTRACIÓN DE SULFAMETAZINA ($\mu\text{g/g}$) EN TEJIDO DE CERDO CRUDO Y EN JAMÓN
SULPHAMETHAZINE CONCENTRATION ($\mu\text{g/g}$) IN PIG TISSUE
EITHER RAW OR IN HAM

Sample	Raw tissue	Ham
1	1.96	1.28
2	1.61	1.48
3	1.54	1.25
4	1.82	1.28
X \pm DE	1.73 \pm 0.17 ^a	1.32 \pm 0.09 ^b

Different letters indicate a significant difference ($P < 0.05$)

Average recovery: 105% \pm 3.6%

The results are expressed on a dry matter basis

Cuadro 3

CONCENTRACIÓN DE SULFAMETAZINA ($\mu\text{g/g}$) EN EMULSIÓN CRUDA Y EN LAS
SALCHICHAS HORNEADAS
SULPHAMETHAZINE CONCENTRATION ($\mu\text{g/g}$) IN RAW EMULSION AND COOKED SAUSAGES

Sample	Raw emulsion	Sausages
1	0.70	0.78
2	1.17	1.11
3	0.80	1.05
4	0.73	0.90
X \pm DE	0.85 \pm 0.19	0.96 \pm 0.13

There is no significant difference ($P > 0.05$)

Average recovery: 90.5 \pm 11%

The results are expressed on a dry matter basis

cil, of Mexico, for the financial support assigned to the execution of the project (35180-B); in the same manner, to the Department of Animal Origin Food Technology of the Food and Development Research Center, A.C., for their support in the preparation of the meat products, and the Nutrition Department of that Center for facilitating the use of the Animal Metabolic Unit for the pig bioassay.

Referencias

1. Fuentes VNC. Dinámica de eliminación de sulfametazina. Cuantificación en suero, hígado y músculo de porcino (tesis de maestría). Hermosillo (Sonora) México: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC, 1999.
2. Poirier LA, Doerge DR, Gaylor DW, Miller MA, Lorentzen RJ, Casciano DA, *et al.* An FDA review of sulfamethazine toxicity. *Regul Toxicol Pharmacol* 1999;30:217-222.
3. Kucers A, Bennett N. McK. The use of antibiotics. 4th ed. Philadelphia, PA: JB Lippincott Company, 1987, 1075-1117.
4. Fischer LJ, Thulin AJ, Zabik ME, Booren AM, Pop-penga RH, Chapman KJ. Sulfamethazine and its metabolites in pork: effects of cooking and gastrointestinal absorption of residues. *J Agric Food Chem* 1992;40:1677-1682.
5. Meléndez PR, Álvarez CA, Del Castillo SAL, Arjona RJL. Las bajas temperaturas en productos cárnicos. (Algunos criterios para su control). *Láct y Cárn Mexic* 2000;15(5):50-53.
6. Bermúdez AMC, Miranda VL, Espinosa PA, Valenzuela QAI, Vázquez ML. Residuos de sulfonamidas en músculo de porcinos sacrificados en la región noroeste de México. *Rev Cient Fac Cienc Vet-Univ Zulia Venezuela*. 2001;10(2):127-132.
7. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-004-ZOO-1994. Control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de bovino, equino, porcino y ovino, por lo que ahora se denominará grasa, hígado, músculo y riñón en aves, bovinos, caprinos, cérvidos, equinos, ovinos y porcinos. Residuos tóxicos, límite máximo permisible y procedimientos de muestreo. *Diario Oficial. México (DF): SAGAR*, 25 de octubre de 1996.
8. Saschenbrecker PW, Fish NA. Sulfamethazine residues in uncooked edible tissues of pork following recommended oral administration and withdrawal. *Can J Comp Med*. 1980;44:338-345.
9. Rose MD, Farrington WHH, Shearer G. The effect cooking on veterinary drug residues in food: 3. sulphamethazine (sulphadimidine). *Food Addit Contam* 1995;12(6):739-750.
10. Code of Federal Regulations. Tolerances for Residues of New Animal Drugs in Food. Part 556.67. Title 21. Washington, DC. 1987:490-491.

por Fischer *et al.*,⁴ tras someter a diferentes tratamientos térmicos carne de cerdo contaminada con dosis intramuscular de sulfametazina, concluyendo que el antibiótico es estable a altas temperaturas.

La disminución que se observó en los niveles de SMZ de los jamones elaborados, respecto de los valores detectados en el tejido crudo, se atribuye principalmente al efecto que causó la combinación del calentamiento y la adición de las sales de nitritos, lo que favoreció la formación de derivados de SMZ, ese aspecto lo señalan Epstein *et al.*¹⁶

Otros estudios, como el de Rose *et al.*¹⁷ y Sánchez *et al.*,¹⁸ sustentan los resultados obtenidos. Estos autores trabajaron en condiciones diferentes a las usadas en este estudio; sin embargo, observaron que la SMZ adicionada de forma artificial al tejido de cerdo¹⁷ o la contenida en tejido de bovino,¹⁸ se mantenía estable ante diversos tratamientos térmicos. La estabilidad presentada por el antibiótico frente a los cambios de temperatura, indica que el consumidor se expone a concentraciones de SMZ similares a las contenidas en el tejido crudo, lo que puede representar un riesgo en la población en general, por lo que destaca la importancia de mantener los residuos de sulfametazina en carne de cerdo, al menos por debajo del límite máximo permitido con la normatividad.

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, de México, el apoyo financiero asignado para la realización del proyecto (35180-B); asimismo, al Departamento de Tecnología de Alimentos de Origen Animal, del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., por su apoyo en la elaboración de los productos cárnicos, y al Departamento de Nutrición de ese Centro por facilitar el empleo de la Unidad Metabólica Animal para la realización del bioensayo con cerdos.

11. AOAC. Official Methods of Analysis. Sections 934.01. 15th edition. Association of Official Analytical Chemists: Washington. D.C. (USA), 1990.
12. Long AR, Hsieh SC, Malbrough MS, Short CR, Barker SA. Multiresidue method for the determination of sulfonamides in pork tissue. *J Agric Food Chem* 1990;38:423-426.
13. Kaysville. Number Cruncher Statistical Systems (computer program) NCSS 2000. UTAH (USA), 1998.
14. Jenke D R. Chromatographic method validation: a review of current practices and procedures. II. Guidelines for primary validation parameters. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* 1996;19(5):737-757.
15. Endo T. Pharmacokinetics of chemotherapeutants in fish and shellfish. *Chemotherapy in Aquaculture:*

- from theory to reality. In: Michel C, Alderman J, editors. Office International des Epizooties. Paris 1992:404-418.
16. Epstein RL, Randecker V, Corrao P, Keeton JT, Cross HR. Influence of heat and cure preservatives on residues of sulfamethazine, chloramphenicol, and cyromazine in muscle tissue. *J Agric Food Chem* 1988;36:1009-1012.
 17. Rose MD, Farrington WHH, Shearer G. The effect of cooking on veterinary drug residues in food: sulfamethazine. *Food Addit Contam* 1995; 12(6):739-750.
 18. Sánchez RL, Fuentes HVO, Sumano LH, Reza GC. Detección de residuos de sulfonamidas en carne y vísceras de bovinos sacrificados. *Cebú* 1988;14(6):72-78.