

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**

**DESCRIPCIÓN HISTÓLOGICA CUANTITATIVA DE UNA MUESTRA DE CARNE  
BOVINA RECUPERADA MECÁNICAMENTE OBTENIDA POR MAQUINA TIPO  
PRENSA Y FILTRO**

Por

**Carmen Roxana GRACES TELLECHEA**

**María Victoria LORENZO MARTÍNEZ**

TESIS DE GRADO presentada como uno de  
los requisitos para obtener el título de Doctor  
en Ciencias Veterinarias

Orientación: Higiene, inspección-control y  
tecnología de los alimentos de origen animal

MODALIDAD: Estudio de caso

**MONTEVIDEO**

**URUGUAY**

**2014**

## PÁGINA DE APROBACIÓN

**Presidente de MESA:**

-----  
Dra. Cristina López



**Segundo Miembro (Tutor):**

-----  
Dr. Oscar Feed

**Tercer Miembro:**

-----  
Dr. Ariel Aldrovandi

**Cuarto Miembro (Co-tutor):**

-----  
Dr. Alejandro Bielli

**Fecha:** 22/12/2014

**Autores:**

-----  
Bachs. Carmen Roxana GRACES TELLECHEA

-----  
María Victoria LORENZO MARTÍNEZ

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a Oscar Feed y a Alejandro Bielli nuestros orientadores, por el tiempo que dedicaron para que podamos realizar este trabajo.

Agradecemos al frigorífico Marfrig “La caballada” por habernos permitido realizar el ensayo en su planta.

A técnicos y veterinarios del frigorífico por brindarnos información y estar a disposición.

A nuestras familias y amigos por estar siempre y apoyarnos.

## TABLA DE CONTENIDO

Título	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
TABLA DE CONTENIDO.....	4
RESUMEN.....	6
SUMMARY.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	12
Antecedentes.....	12
Descripción del equipo utilizado.....	13
Definición del producto en estudio.....	14
Propiedades nutricionales de la carne recuperada mecánicamente.....	15
Factores que afectan el producto.....	16
Microbiología.....	17
Usos de la carne recuperada mecánicamente.....	18
Normativa nacional e internacional.....	18
Ventajas de la carne recuperada mecánicamente.....	23
Desventajas de la carne recuperada mecánicamente.....	24
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	26
MATERIALES Y MÉTODOS.....	27

Toma de muestras.....	27
Procedimiento.....	27
Análisis estadístico.....	33
RESULTADOS.....	34
Análisis cualitativo.....	34
Análisis cuantitativo.....	35
DISCUSIÓN.....	39
CONCLUSIONES.....	42
BIBLIOGRAFÍA.....	43

## RESUMEN

Los uruguayos somos grandes consumidores de carne, siendo ésta una fuente de valiosos nutrientes para el crecimiento y desarrollo de las personas. En la industria frigorífica, luego de realizado el desosado, se genera un porcentaje de desperdicio que corresponde a la carne que queda adherida al hueso, la cual podría ser utilizada como fuente de alimento. Para aumentar el rendimiento de la res se utilizan máquinas recuperadoras de carne como por ejemplo el equipo de tipo prensa y filtro DMM Marel Meat Processing. La carne recuperada mecánicamente se define como un subproducto de frigorífico que se obtiene de los restos de tejidos blandos presentes en el esqueleto vacuno, luego de que se completó la recuperación manual de carne. Los objetivos de esta tesis fueron: 1) describir la composición histológica volumétrica porcentual en distintos tipos de tejido de muestras de carne recuperada mecánicamente, 2) determinar el tamaño máximo de las esquirlas óseas encontradas en muestras de carne recuperada mecánicamente y 3) determinar si existen diferencias en volumen porcentual ocupado por distintos tipos de tejido en muestras de carne recuperadas mecánicamente procesadas en distintos contenedores. Para esto se utilizó una muestra de carne recuperada mecánicamente de la cual se procesaron cinco submuestras, luego de pasado el tiempo de fijación se las procesó y coloreó con Hematoxilina Eosina, obteniendo preparados histológicos. A partir de los preparados se describieron los tejidos presentes con microscopio óptico. Se describió el volumen porcentual de los tejidos presentes, colocando un patrón de puntos en forma de grilla y superponiéndola a la imagen, para contar el número de puntos sobre los distintos componentes de la imagen. Los tejidos observados (media $\pm$ ds, %) fueron, en orden de abundancia relativa: muscular esquelético (48,05 $\pm$ 24,49), adiposo (26,08 $\pm$ 13,30), hematopoyético (10,06 $\pm$ 5,09), cartilaginoso (7,57 $\pm$ 4,13), conjuntivo laxo (3,14 $\pm$ 1,73) y conjuntivo denso (3,07 $\pm$ 1,58) y óseo (2,09 $\pm$ 1,66). No hubo diferencia en los volúmenes porcentuales para distintos tejidos, según los diferentes contenedores utilizados. La esquirla ósea observada de mayor tamaño midió 0,503 mm en su dimensión máxima, por lo que se encontró dentro de los límites especificados en la reglamentación vigente para nuestro país.

## SUMMARY

Uruguayan people are great consumers of meat, which is a source of valuable nutrients for human growth and development. A percentage of waste is produced in meat industry and it corresponds to meat which is attached to bones, which otherwise could be used as food. Consequently, meat technology has designed a filter and press equipment DMM Marel Meat Processing that obtains desinewed minced meat, which increases carcass performance. Desinewed minced meat can be defined as a by-product of meat industry that is obtained from the remains of soft tissues present in cattle skeleton after manual meat deboning. The aims of this thesis were: 1) describing the histological composition of the samples of desinewed minced meat, 2) establishing the volumetric percentage composition in tissues of samples from desinewed minced meat, 3) establishing the maximum size of bone fragments found in samples of desinewed minced meat and establishing if there are any differences in volumetric percentage occupied by different kinds of tissues in samples of desinewed minced meat processed in different containers. Five samples of desinewed minced meat were used for this, after some time for fixation they were processed and stained with hematoxylin-eosin, obtaining histological preparations which were the basis of this study. From these preparations, tissues present were identified using an optical microscope at different magnifications. The volumetric percentage of tissues was described using a method that consists of placing a dotted pattern grid on top of the image; the number of dots on the different components of the image can thus be counted. The tissues observed in order of relative abundance were: skeletal muscle ( $48.05 \pm 24.49$ ), fat ( $26.08 \pm 13.30$ ), hematopoietic ( $10.06 \pm 5.09$ ), cartilage ( $7.57 \pm 4.13$ ), loose connective ( $3.14 \pm 1.73$ ), dense connective ( $3.07 \pm 1.58$ ) and bone ( $2.09 \pm 1.66$ ). There was no difference in the volumetric percentages for each tissue according to the different containers used. All bone fragments observed were under 0.503mm in their maximum length, which is in accordance to the regulatory requirements in Uruguay.

## INTRODUCCIÓN

Nuestro país cuenta con un stock bovino de 11.536.000 vacunos al 30 de junio del 2013. Esta cifra se incrementó en un 1,1% con respecto al año anterior (MGAP-DICOSE, Stock bovino, 2013).

Cuadro 1. Stock Bovino discriminado por categorías, MGAP al 30 de junio del 2013

<b>Categoría y edad</b>	<b>2013</b>	<b>%</b>
Toros	165	1,4
Vacas de cría (entoradas)	4.217	36,6
Vacas de invernada	338	2,9
Total vacas	4.555	39,5
Novillos de 1 a 2 años	1.120	9,7
Novillos de 2 a 3 años	789	6,8
Subtotal Novillos de 1 a 3 años	1.909	16,5
Novillos de mas de 3 años	445	3,9
Total novillos	2.354	20,4
Vaquillonas de 1 a 2 años	1.186	10,3
Vaquillonas + 2 años sin entorar	492	4,3
Total vaquillonas	1.678	14,5
Terberos/ terneras	2.784	24,1
Total	11.536	100,0

Fuente MGAP 2013

La industria frigorífica es el sector con mayor relevancia dentro de la industria nacional. La faena industrial de bovinos en 2013 fue de 1.982.441 cabezas. En cuanto a las categorías faenadas, un 53,6% del total de animales faenados fueron novillos (1.069.339 cabezas). El 44% del total de la faena del 2013 correspondió a hembras (vaquillonas, vacas), unas 871.918 cabezas. El restante 2,4% fueron toros y terneros (INAC, 2014).

Los productos ganaderos constituyen el mayor volumen exportado por nuestro país. Uruguay se posiciona dentro de los 6 principales exportadores de carne bovina del mundo. Las exportaciones del sector cárnico en el 2013 fueron de 419.332 toneladas peso embarque, algo menor que el año anterior. El valor de estas exportaciones fue de 1.671 millones de USD. La carne bovina representa el 80% en el sector cárnico de exportaciones, unos 1.338 millones de USD en el 2013 (INAC, 2014, Uruguay XXI, 2013).



Existen en el país 30 empresas exportadoras del sector cárnico que cuentan con planta de faena y 3 empresas sin planta de faena. Se exporta carne refrigerada ya sea enfriada o congelada; con y sin hueso, en forma de cuartos trasero o delantero, media canal o cortes chicos (INAC, 2014).

Los principales destinos de las carnes uruguayas son Europa, China, Rusia, EE.UU, Brasil, Canadá, Hong Kong, Chile. Los cortes exportados para estos mercados son vacío, bife ancho, bife angosto, colita de cuadril, cogote, peceto, nalga, carnaza cuadrada, garrón, brazuelo, tapa de cuadril, cuadril, paleta, intercostales. Otro destino importante es Israel, el cual tiene preferencia por los cortes delanteros (carne Kosher) tales como tapa de bife ancho, bife ancho, aguja, pecho, marucha, carnaza de paleta, chingolo, brazuelo, cogote, tapa de aguja, asado (INAC, 2014).

Por otra parte, es pertinente resaltar también el mercado interno, ya que es un mercado muy importante. Los uruguayos somos grandes consumidores de carne, se consumen 100Kg/año per cápita, de los cuales 60Kg/año per cápita corresponden a carne bovina. Se vuelca al mercado interno aproximadamente un 25% de la producción total de carne bovina del país. Los principales cortes vendidos son colita de cuadril, nalga, peceto, falda, asado, trasero con hueso (botellita). El mercado interno de carne bovina se autoabastece con parte de la producción nacional (INAC, 2014).

El consumo de carne y productos cárnicos aporta valiosos nutrientes, tales como proteínas, minerales, micronutrientes, que son esenciales para el crecimiento y el desarrollo de las personas. La tecnología cárnica brinda la oportunidad de añadir valor a la carne y productos cárnicos, reducir sus precios, fomentar la inocuidad y ampliar la vida útil de los mismos. Aproximadamente unos 2000 millones de personas en el mundo sufren carencias vitamínicas y minerales fundamentales, específicamente de vitamina A, yodo, hierro y zinc. Estas carencias se producen cuando las personas tienen un acceso limitado a alimentos tales como carne, pescado, hortalizas. Para combatir eficazmente la malnutrición y la subnutrición deben consumirse 20g de proteína/día per cápita. Las proteínas pueden ser combinadas, de origen animal y vegetal, si bien se sabe que las proteínas de origen animal son de mejor calidad y de mas fácil absorción que las proteínas de origen

vegetal. Por esta razón, los recursos alimentarios deben ser utilizados al máximo, obteniendo alto rendimiento de los mismos (FAO, 2014).

Basados en lo anteriormente mencionado, que es un estudio a nivel mundial, consideramos que Uruguay no está ajeno a esta realidad, y es por eso que el aumento en el rendimiento proteico de la res es una medida útil para este fin, alcanzando valores de rendimiento cercanos al 100%. Esto es realizable mediante la utilización del equipo para la obtención de carne recuperada mecánicamente.

Existen distintos tipos de maquinas recuperadoras de carne, las cuales se diferencian por su sistema de recuperación. A nivel nacional, en el 2011 ingresó al frigorífico La Caballada-Cledinor S.A. una máquina de tipo prensa y filtro DMM Meat Harvester (Marel Meat Processing BV), de origen holandés. Esta nueva tecnología permite obtener carne recuperada con gran eficiencia (Marel, 2014). La carne recuperada mecánicamente es un subproducto de frigorífico que se obtiene de los restos de tejidos blandos presentes en el esqueleto del vacuno, luego de que se completó la recuperación manual de carne. Es obtenida por separación y remoción por medios mecánicos del músculo esquelético adherido a los huesos y carcasas, excluyendo huesos de las extremidades por debajo del tarso o carpo, huesos de cabeza y columna vertebral. Habitualmente, las muestras se obtienen a partir de esqueletos vacunos. Se emplean únicamente huesos y carcasas de animales aprobados para consumo humano y que hayan sido faenados y desosados en establecimientos habilitados por el MGAP.

Los precios de los principales cortes de carne vacuna en el mercado son altos y no toda la población puede adquirir las proteínas animales necesarias para su desarrollo en cantidad suficiente. El corte de carne vacuna mas consumido por la población uruguaya es la carne picada, la cual es similar en aspecto a la carne recuperada mecánicamente. Por esta razón, se podría considerar a la carne recuperada mecánicamente como una fuente proteica de bajo costo. Para que esto ocurra, se debe estudiar la composición de éste producto, evaluando la cantidad de proteína, grasa y posibles restos óseos que pueda contener. Se debe estudiar los tejidos que componen la carne recuperada mecánicamente y establecer si en la misma aparecen esquirlas de tejido óseo. Los resultados obtenidos deben ser comparados con la normativa uruguaya del MGAP del 15 de diciembre de 2008:

Norma reglamentaria para la producción, el almacenamiento, la composición y la utilización de carne separada o recuperada mecánicamente

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### Antecedentes

En la industria frigorífica se genera un porcentaje de desperdicio que corresponde a la carne adherida al hueso, que es de difícil remoción manual, la cual podría ser utilizada como fuente de alimento. Al procesar este producto compuesto de hueso con restos de carne se obtendría un mayor rendimiento de la res y a su vez, se genera una nueva fuente de proteína alimenticia.

Se estima que, en Gran Bretaña, la pérdida de carne roja que se encuentra adherida al hueso es de dos toneladas métricas por año. Esta carne, que se considera desperdicio por parte de las industrias, debe ser recuperada e ingresada al mercado de alimentos. Para que se logre la entrada de este producto alimenticio al mercado, la actitud de quienes procesan este alimento debe cambiar completamente. Los huesos con carne adherida que son procesados deben de ser considerados como fuente de alimento, y no como material de desperdicio. Para esto se deben aplicar estándares de higiene alimentaria al producto a procesar (Newman, 1981).

Históricamente, la separación de la carne adherida al hueso era realizada únicamente por personas que tenían gran habilidad en el manejo de cuchillos de varios tipos. Con el objetivo de hacer esta tarea más eficiente, se introdujo a la industria cuchillos mecanizados y otros instrumentos cortantes. Los cuchillos mecanizados hacían el trabajo más rápido pero esta técnica requiere mucha manipulación y por ende mayor contaminación que una máquina estática (Crawford, 2002).

La máquina estática para la recuperación de carne fue utilizada por primera vez en el período posterior a la segunda guerra mundial, entre los años 1940-1950. Procesadores de pescado japoneses, al notar que luego del procesamiento del pescado con métodos tradicionales aún quedaba proteína de pescado, decidieron implementar un sistema para recuperar la carne entre los huesos (Newman, 1981, De Gouvêa, 2007). Por otra parte, la recuperación mecánica de carne de aves surgió al final de la década del 50 en Estados Unidos. La preferencia por parte de los consumidores por cortes de pollo y filetes en vez de pollos enteros, llevó a la industria a encontrar medios para el mejor aprovechamiento de carcasas, cogotes y

huesos resultantes del desosado. Es por este motivo que comienza la utilización de carne de pollo recuperada mecánicamente para la elaboración de productos tales como mortadelas, sopas en polvo, etc. La máquina utilizada para la recuperación de carne de ave y pescado trabaja en base a la misma tecnología que posteriormente fue adaptada para la recuperación de carne bovina (Trindade y col., 2004). Las primeras máquinas fueron consideradas un método un tanto violento ya que para obtener la carne necesitaban moler el hueso. Este sistema era ineficiente ya que permitía que llegaran residuos de hueso y componentes del mismo a la carne recuperada resultante. Desde sus inicios hasta la actualidad, la tecnología para la recuperación de carne ha mejorado rotundamente, logrando hoy en día la obtención de un producto de alta calidad (Crawford, 2002). Actualmente estas máquinas cuentan con una tecnología de precisión que consiste en aplicar baja presión controlada y filtros, lo que permite mantener sin dañar la estructura de las células adiposas y musculares (Marel, 2014).

### **Descripción del equipo utilizado**

La máquina empleada para la recuperación de carne en el frigorífico Cledinor S.A. es una DMM-50, de origen holandés; sus siglas en inglés corresponden a “*desinewed minced meat*”, que significa carne picada denervada. La tecnología de la máquina se basa en un sistema de filtros de entre 6 y 10 mm y en la utilización de baja presión entre 50 y 100 bares. La primera etapa de filtrado es por un filtro con orificios grandes en combinación con una hidráulica mejorada. La baja presión es sumamente controlada, permitiendo una separación de la carne del hueso sin romper el mismo y prácticamente sin restos de médula ósea. Esta tecnología permite que la estructura de la carne se conserve y es por eso que este producto puede tener una funcionalidad y un valor equivalentes a los de la carne picada. El segundo sistema de filtrado da como resultado una carne picada de estructura gruesa, con partículas de unos 3 mm. Los huesos que salen del sistema siguen siendo reconocibles en su forma anatómica y aparecen casi intactos. Particularmente el modelo DMM-50 es de carga automática, teniendo un capacidad de procesamiento de 2500 Kg/hr, obteniendo una producción media de carne en grano

de 600 kg. La máquina es apta para carne vacuna, de cordero y de cerdo (Marel, 2014).

### **Definición del producto en estudio**

El producto en estudio es la carne que se obtiene de los huesos luego del desosado recuperada mediante máquinas especiales, a la que se le saca los cartílagos, nervios y partículas óseas, y se denomina carne recuperada mecánicamente. Es obtenida de diversas fuentes, tales como el trimming y la recuperación de restos de carne que se encuentran adheridos al hueso. El producto se obtiene al pasar el trimming o los huesos con carne que se obtienen luego del proceso de desosado de la res, por una máquina que trabaja con filtros y a baja presión, dando como resultado un producto que mantiene la estructura de la fibra muscular. El proceso que se le aplica a la carne no es suficiente para modificar la estructura muscular ni para eliminar las características propias de la carne fresca. Este producto alimenticio de alta calidad tiene un aspecto similar a la carne picada. Se puede decir que la misma no entra dentro de la clasificación de carne separada mecánicamente, ya que la CSM pierde la estructura de los tejidos, pero tampoco se puede considerar como carne picada ya que se obtiene por presión y no cortándola. Es por eso que el producto en estudio se considera un producto cárnico (Food standards agency UK, 2010).

La definición legal en Uruguay de este producto cárnico se encuentra en la norma reglamentaria para la producción, el almacenamiento, la composición y la utilización de carne separada o recuperada mecánicamente, publicada por el MGAP, que es la siguiente: "Se entiende por "carne separada o recuperada mecánicamente" (CRM) la carne finamente molida, obtenida por separación y remoción por medios mecánicos, del músculo esquelético adherido a los huesos, las carcasas o parte de las carcasas e identificada según la especie de que se trate."

"Se entiende por CRM de rumiantes, suinos y equinos, a la carne finamente molida, producto de la separación mecánica del músculo esquelético adherido al hueso de las carcasas o parte de carcasas de dichos animales, a excepción de los huesos de

las extremidades por debajo del carpo o tarso. En el caso de los rumiantes, también se exceptúan los huesos de la cabeza y de la columna vertebral” (MGAP, 2008).

### **Propiedades nutricionales de la carne recuperada mecánicamente**

Las propiedades nutricionales de la carne recuperada mecánicamente son controversiales. Se afirma que los niveles de calcio en este producto son mayores que en otro tipo de carne; esto no implica necesariamente una evaluación negativa. Científicos estadounidenses sostienen que muchas mujeres jóvenes no llegan a cubrir sus requerimientos de calcio, por lo cual el hecho de que la carne recuperada mecánicamente tenga mayores niveles de calcio sería beneficioso. Dado que el aumento de calcio en el producto proviene del hueso, se sabe que también puede haber en ese producto otros componentes del hueso. Se estima que si se encuentra concentraciones de calcio demasiado altas, es debido a la utilización de una mala técnica y que se podría encontrar un peligro asociado a esta técnica, que son las esquirlas de hueso. Debido al riesgo de presencia de esquirlas de hueso, se ha mejorado la tecnología tratando de eliminarlas.

Se ha encontrado un incremento en grasas, colesterol y hierro, en comparación con otras carnes. El incremento de estos tres componentes está dado por la presencia de médula ósea. El contenido de grasa y colesterol no es deseable, pero por otra parte el contenido de hierro es útil para la prevención de la anemia (Crawford, 2002).

La composición de aminoácidos de la carne recuperada mecánicamente es de gran importancia para estimar su valor nutricional. Mediante ensayos se obtuvo que el contenido de aminoácidos hallados en la carne recuperada mecánicamente era similar al de la carne recuperada manualmente. Esto indica que es poco probable que la calidad de la proteína esté por debajo de los estándares recomendados. El contenido de flúor está aumentado, este componente es necesario para mantener el esqueleto y reduce la incidencia de osteoporosis en el consumidor. Se ha demostrado una correlación positiva entre el alto contenido de calcio y el alto contenido de médula ósea y grasas, así como una correlación negativa con el contenido proteico. Es por esto que se sugiere monitorear el contenido de calcio para estimar la calidad nutricional del producto. La inclusión de carne recuperada

mecánicamente en la dieta humana está considerada beneficiosa en varios aspectos, aunque se requiere más investigación para asegurarse que no hayan problemas a largo plazo (Newman, 1981).

Por otra parte, estudios realizados con la máquina (DMM50) que fue utilizada para este trabajo, demuestran que el producto obtenido por la misma es de mejor calidad, tiene un aspecto homogéneo con alto contenido de proteína y bajo contenido de calcio y grasa. Esto es debido al avance tecnológico de esta máquina en comparación con los sistemas tradicionales (Marel, 2014).

La calidad proteica de la carne recuperada mecánicamente está relacionada con el porcentaje de carne magra presente. La carne comercial recuperada mecánicamente tiene proteínas de alta calidad (Chang, 1977).

El mayor componente proteico de la carne son los tejidos muscular y conectivo. Muchos experimentos muestran que la proteína del tejido conectivo es una fuente de bajo valor proteico por sí sola, debido a la falta de triptófano. Sin embargo, no necesariamente una mezcla de tejido muscular y tejido conectivo tiene menor valor proteico que el tejido muscular solo, esto se explica por el fenómeno de complementación proteica. La carne puede ser diluida hasta en un 50% con gelatina sin afectar su digestibilidad ni su balance de nitrógeno (Carpenter, 1984).

### **Factores que afectan el producto**

Son muchos los factores que influyen en el rendimiento y la composición de la carne recuperada mecánicamente. Uno de ellos está relacionado con el equipamiento utilizado. Cuando es un equipo que trabaja aplicando mucha presión, esto permite que una mayor cantidad de tendones, huesos y residuos no cárnicos lleguen al producto final, dando como resultado un proceso menos eficiente (De Gouvêa, 2007).

La materia prima utilizada influye en el rendimiento y la calidad de la carne recuperada mecánicamente. Es importante tener en cuenta la edad del ganado, ya que cuanto más joven sea la res, mejor. Otro elemento a considerar es el tiempo



entre el noqueo y el procesado, cuanto más corto sea este tiempo mayor calidad tendrá el producto (De Gouvêa, 2007; Marel, 2014).

Todos los procesos de recuperación mecánica de carne producen un aumento en la temperatura del producto. Por lo tanto, es importante mantener la materia prima a baja temperatura, con lo cual la temperatura de la carne recuperada también será baja. De esta forma no se favorece el crecimiento bacteriano (De Gouvêa, 2007).

## **Microbiología**

Se sabe que el riesgo de crecimiento microbiano se incrementa con el uso de alta presión en carnes de aves y cerdos (Ferrer, 2013). Cabe destacar que la máquina empleada en este estudio, la DMM-50, posee un sistema de enfriamiento previo de la materia prima así como para el enfriamiento posterior del producto, lo que evita el rápido crecimiento bacteriano (Marel, 2014).

La normativa nacional no es específica en el tema, sostiene que la carne recuperada mecánicamente debe estar libre de materia extraña que constituya un peligro para la salud humana. Cuando la misma sea sometida a análisis prescritos por la División Industria Animal, la carne recuperada mecánicamente debe de estar libre de patógenos y/o sustancias procedentes de microorganismos en cantidades que puedan significar un peligro para la salud humana (MGAP, 2008).

Dado que no existe normativa microbiológica nacional para la carne recuperada mecánicamente, consideramos que es pertinente aplicar la normativa para carne picada por ser productos similares en composición, aunque la misma no se obtenga de igual manera.

Decreto N° 215/006 del Poder Ejecutivo de 3 de julio del 2006

“Artículo 6°.- La carne bovina picada en comercios de carnicería, se ajustará a los siguientes parámetros microbiológicos:

UFC: igual o menor a  $10^7$  por gramo

Estafilococo Coagulasa Positivo: igual o menor a  $10^2$  por gramo.

Clostridium Sulfito Reductores: igual o menor a  $10^2$  por gramo.

Salmonella: Ausente en 25 gramos.

E. Coli: igual o menor a 5 por  $10^2$  por gramo.

E. Coli 0157/H7: Ausente”.

### **Usos de carne recuperada mecánicamente**

La carne recuperada mecánicamente se utiliza como componente de productos cárnicos termo-procesados como por ejemplo productos emulsionados de masa fina, en los cuales la calidad está directamente relacionada a la estabilidad de la emulsión. Para que la emulsión sea estable es necesario que las partículas de grasa en la mezcla estén envueltas por una membrana de proteínas y que estas partículas estén distribuidas en una matriz de agua y proteína. La utilización de carne recuperada mecánicamente es una alternativa que contribuye al agregado de valor a productos diferenciados, favoreciendo la rentabilidad de la industria de procesamiento de productos cárnicos (De Gouvêa, 2007).

El uso de carne recuperada mecánicamente en productos alimenticios para humanos se encuentra en expansión. Existen algunas características que pueden ser restrictivas para el empleo de carne recuperada mecánicamente en productos procesados. Algunas de estas características son la capacidad de ligar agua, la estabilidad en emulsión, el porcentaje de humedad, etc. Las propiedades tecnológicas de la carne bovina recuperada mecánicamente han sido poco estudiadas. Los estudios más importantes se han hecho para carne de ave (Newman, 1981).

En otros países la carne recuperada mecánicamente de alta calidad es utilizada para la elaboración de productos tales como hamburguesas, salames, carne en conservas, empanadillas de carne, albóndigas y salchichas frescas (Marel, 2014).

## **Normativa nacional e internacional**

El Codex Alimentarius (Código Alimentario), en su condición de organismo internacional que dicta estándares, guías y códigos sobre temáticas de alimentos, dentro del código de prácticas e higiene para la carne trata algunos aspectos de la carne recuperada mecánicamente. Dentro de este código de prácticas e higiene para la carne se incluyen aspectos a tener en cuenta para la producción de carne recuperada, como por ejemplo:

- Las cabezas de animales no podrán ser utilizadas para la obtención de carne recuperada mecánicamente.
- Se debe establecer límite máximo para el contenido de calcio.
- Se debe exigir un etiquetado específico para el producto final.
- Se debe establecer tiempos y temperaturas para los procesos involucrados en la obtención de carne recuperada mecánicamente.
- Los establecimientos deben contar con detector de metales.

Algunos países toman las recomendaciones del Código Alimentario como base para realizar sus normativas respecto a la carne recuperada mecánicamente. La finalidad del Codex es garantizar alimentos inocuos y de calidad a todas las personas y en cualquier lugar del mundo (Codex Alimentarius, 2005)

A nivel nacional la primera normativa respecto a la carne recuperada mecánicamente se dictó el 15 de diciembre de 2008, por la Dirección General de Servicios Ganaderos, División Industria Animal, MGAP. Esta reglamentación es complementaria del decreto 369/983, de octubre de 1983. La misma se realizó a causa del incremento en los últimos años en la utilización de este producto como ingrediente en alimentos elaborados. La reglamentación elaborada se denomina “Norma reglamentaria para la producción, el almacenamiento, la composición y la utilización de carne separada o recuperada mecánicamente”. Esta norma establece la definición del producto, y las materias primas que se emplearán para la elaboración de la carne recuperada mecánicamente. Las materias primas deben ser huesos o carcasas de animales aprobados para consumo humano y que hayan sido faenados en establecimientos habilitados por el MGAP. La recuperación de carne

debe ser hecha en el mismo establecimiento en que se realiza el desosado, con materias primas conservadas por un tiempo definido y a temperatura controlada para asegurar la inocuidad microbiológica. La reglamentación uruguaya también establece requisitos para los locales y el equipamiento utilizado. Algunos de los requisitos para el local son: el área destinada para tal fin debe ser contigua y estar separada físicamente de la sala de desosado, la temperatura ambiente no podrá superar los diez grados centígrados. Se debe de evitar el entrecruzamiento o contra flujos. En cuanto al equipamiento, los requisitos son: que sean desmontables, de fácil limpieza y desinfección y que estén contruidos con materiales autorizados. Todos los establecimientos que elaboren este producto deben contar con detector de metales. En lo que respecta al producto final, la norma establece que el mismo, cuando no es utilizado inmediatamente, debe de ser conservado entre -2 y 2 °C, y debe ser utilizado dentro de las 12 hrs de obtenido. En el caso que no sea utilizado dentro de las primeras 12 hrs deberá ser congelado a -18 °C en el núcleo del bloque. El proceso de elaboración debe de estar contemplado en los manuales GMP y SSOP del establecimiento.

La carne recuperada mecánicamente destinada al consumo humano debe cumplir los siguientes requisitos:

“...No podrá contener ningún aditivo ni producto conservante.

ii. Deberá denominarse de acuerdo a la especie de la que proviene:

CRM procedente de rumiantes, suinos y equinos:

iii. El contenido de calcio referido a materia seca no deberá exceder de 0,75%;

iv. el contenido de proteínas no deberá ser inferior al 14% y

v. el contenido de grasa no deberá exceder el 30%.

vi. Las partículas de hueso presentes no podrán ser mayores a 0,55 mm medidas en su longitud máxima.

CRM procedente de aves:

vii. El contenido de calcio no será mayor a 0,235%.

viii. Podrá contener médula ósea, tejido óseo y otros tejidos adheridos a las carcasas y partes de las carcasas, pudiendo contener piel con su grasa adherida.

ix. No podrá contener más de 1% de hueso sólido.

x. El 98% de las partículas de hueso no podrán ser mayores de 2 mm medidos en su máxima longitud.

3.3.6. La DIA incluirá la CRM en un programa de muestreo para análisis microbiológico, que se diseñará y ajustará oportunamente.”

Por último, la normativa uruguaya dispone cómo podrá ser utilizado el producto, el mismo podrá formar parte de la materia prima de productos cárnicos termo procesados, esta cantidad no podrá superar el 20% de todos los componentes cárnicos de la fórmula inicial. Con lo que respecta a la microbiología, el producto debe estar libre de patógenos y sustancias procedentes de microorganismos en cantidades que puedan ser un peligro para la salud humana. Los productos que contengan carne recuperada mecánicamente en su composición deben de declarar en la fórmula porcentual y en la nómina de ingredientes, a qué especie pertenecen.

Por otra parte, en Argentina se dictó la resolución 368/2003 por parte del SENASA. En dicha resolución modifican el reglamento en lo que respecta a carne separada mecánicamente, estableciendo parámetros de calidad e identidad y requisitos sanitarios. La normativa argentina es conceptualmente igual a la normativa uruguaya, con la salvedad que plantea requisitos para el producto en mayor detalle. Con respecto a la materia prima para la obtención de carne separada mecánicamente, además de lo que expresa la normativa uruguaya, agrega un ítem que enuncia que las carcasas deben ser despojadas íntegramente de la médula espinal. Los requisitos que enuncia la norma argentina para la composición de la carne separada mecánicamente son:

- El 98% de las partículas de hueso no deben medir más de 0,55 mm en su máxima longitud. No deben existir partículas mayores a 0,85 mm en su máxima longitud.
- Contenido de calcio no mayor a 750 mg cada 100 g.
- Contenido de proteínas no menor a 14%.

- Contenido de grasa no mayor a 30%.

Este producto alimenticio sólo podrá ser utilizado como ingrediente para chacinados cocidos. El proceso térmico debe alcanzar en el núcleo un mínimo de 70 °C durante 30 minutos u otro proceso térmico equivalente.

En lo que se refiere a la legislación de carne recuperada mecánicamente en Brasil, el organismo encargado de la misma es el Ministerio da Agricultura e do Abastecimento. La instrucción normativa N° 4 trata la temática de carne recuperada mecánicamente, la misma se apoyó en el Código Alimentario y otras normas alimentarias brasileras. Al basarse en los lineamientos del Código Alimentario las normativas uruguayas, argentinas y brasileras con respecto a la carne recuperada mecánicamente son similares, salvo en aspectos puntuales, destacándose en la normativa brasileras criterios microbiológicos (Ministerio da Agricultura, e do Abastecimento Brasil, 2000).

Cuadro 2. Criterio de aceptación para microorganismos en carne recuperada mecánicamente (Ministerio da agricultura e do abastecimento/ Brasilia, 2000).

Microorganismo	Categoría	Criterio de aceptación	Método de análisis
<i>Salmonella</i>	10	n = 5, c = 2 ausencia en 25 g	APHA-1992, FDA Ed.,1992 ISO 7 <sup>th</sup>
<i>S. aureus</i> (UFC/g)	07	n = 5, c = 2 m = 5x10 <sup>2</sup> M=5x10 <sup>3</sup>	APHA-1992, FDA Ed.,1992 7 <sup>th</sup>
<i>Clostridium perfringens</i> (UFC/g)	07	n = 5, c = 2 m= 1x10 <sup>2</sup> M =1x10 <sup>3</sup>	FDA Ed.,1992 7 <sup>th</sup>

Fuente: Ministerio da agricultura e do abastecimiento, Brasil 2000.

En Estados Unidos y Canadá la DMM es regulada por la normativa aplicable para los sistemas avanzados de recuperación de carne. Esta regulación indica que la carne obtenida puede ser utilizada como carne picada sin especificar el método de obtención en la etiqueta si cumple con los siguientes requisitos:

- El proceso no debe pulverizar los huesos, los mismos se deben poder reconocer anatómicamente.

- El nivel de calcio no debe exceder los 150 mg cada 100 g (www.marel.com, 2014).

La autoridad de inocuidad de alimentos irlandesa indica los mismos criterios que Estados Unidos y Canadá, incorporando criterios microbiológicos. En este aspecto se establece que cuando la carne mecánicamente recuperada cumple con los criterios microbiológicos establecidos para la carne picada, la misma puede ser utilizada como tal. En caso de no cumplirse lo anteriormente descrito, la carne recuperada mecánicamente debe ser utilizada con un tratamiento térmico previo (Food safety authority of Ireland, 2009).

La normativa de la Unión Europea se enfoca en dictar lineamientos de etiquetado de productos que contengan carne mecánicamente recuperada, así como estándares de higiene de la misma. En el 2001 se prohibió la utilización de huesos de rumiantes como materia prima para la obtención de carne recuperada mecánicamente debido a la presencia de Encefalopatía Espongiforme Bovina en la región. Está permitido utilizar como materia prima huesos de otras especies como aves de corral y suinos (Comisión Europea, 2010).

### **Ventajas de la carne recuperada mecánicamente**

Se utiliza un equipo con tecnología moderna, que permite obtener una carne recuperada de alta calidad. Esto significa que algunos de los inconvenientes que tenían equipos anteriores, como por ejemplo la destrucción de la estructura celular, no existen en este equipo. El producto presenta gran cantidad de fibras musculares intactas y algunas fibras musculares que muestran alteración y liberación de proteínas, tejido adiposo intacto, algunas fibras de colágeno, escaso tejido óseo y cartilaginoso así como pequeña cantidad de medula ósea (Koolmees, 1999). Además de los beneficios para la industria al aumentar el rendimiento de la res, se puede considerar una fuente proteica para la alimentación humana. Como ya se ha señalado, el mayor contenido de calcio y flúor en la carne recuperada mecánicamente es un punto a favor, ya que la bibliografía indica que puede ayudar a paliar una insuficiente ingesta de calcio, que es un factor de riesgo de osteoporosis. La mujer pre menopáusica conseguiría el equilibrio cálcico con una ingesta de calcio

de unos 20 mg/kg, y se sabe que la ingestión media de calcio tanto en mujeres como en varones, es de unos 10 mg/kg. La ingestión de calcio en personas jóvenes influye en la masa ósea en la madurez (Studd, 1990). Otro punto a favor que tiene este producto es el mayor nivel de hierro, esto está dado esencialmente por el contenido de médula ósea. El mayor contenido de hierro es beneficioso para la prevención de la anemia, estudios recientes demuestran que cerca de un 40% de la población norteamericana no cumplen con sus requerimientos de hierro. Está comprobado que el hierro de origen animal se absorbe en intestino en un mayor porcentaje que el hierro de origen vegetal (Crawford, 2002). La tecnología del equipo DMM-50 permite producir una carne recuperada de grano grueso, de 3mm, con una textura comparable con la de la carne picada, alto contenido proteico, bajo nivel de grasa y calcio. Esto da como resultado un alto rendimiento del producto y una gran versatilidad en su uso.

Estudios de digestibilidad de carne recuperada mecánicamente realizados con ratas, demostraron que la misma posee una alta digestibilidad. La carne recuperada mecánicamente con alto contenido de tejido conectivo demostró un efecto depresor de la digestibilidad. Sin embargo, generalmente la carne recuperada mecánicamente no posee más de un 35% de su proteína en forma de colágeno, lo cual nos indica que la digestibilidad no bajará más de un 5%. Desde el punto de vista económico y valor nutricional proteico, la recuperación de carne mecánicamente debe ser alentada como una forma de aumentar el rendimiento de proteínas y aminoácidos esenciales obtenidos de una carcasa (Carpenter, 1984).

### **Desventajas de la carne recuperada mecánicamente**

En un principio, una de las grandes desventajas de la carne recuperada mecánicamente era el contenido en restos de huesos y sus componentes. Actualmente esto ha cambiado, ya que la tecnología utilizada con baja presión y doble sistema de filtros logra que casi no lleguen esquirlas de hueso a la carne recuperada. En el caso que existieran esquirlas de un tamaño considerable, esto sería un peligro físico para el consumidor. El contenido de médula espinal alerta a los consumidores y este tejido no debería de existir en la carne recuperada mecánicamente, ya que la médula espinal constituye un material de riesgo para la



transmisión de Encefalopatía Espongiforme Bovina. Es por esto que en nuestro país se prohíbe la utilización de columna vertebral y cabeza para la obtención de la carne recuperada mecánicamente.

## **HIPÓTESIS**

### Hipótesis descriptiva

Es posible realizar una descripción detallada, cuantitativa, del volumen porcentual ocupado por los distintos tejidos en una muestra de carne recuperada mecánicamente.

## **OBJETIVOS**

El objetivo general de la presente propuesta es describir la composición histológica de una muestra de carne bovina recuperada mecánicamente.

### **Objetivos particulares**

Determinar la composición volumétrica porcentual de tejidos en una muestra de carne bovina recuperada mecánicamente.

Determinar el tamaño máximo de las esquirlas óseas encontradas en una muestra de carne bovina recuperada mecánicamente.

Determinar si el tamaño máximo de las esquirlas óseas encontradas en una muestra de carne bovina recuperada mecánicamente se encuentra dentro de los límites de la reglamentación vigente.

Determinar si existen diferencias en volumen porcentual ocupado por distintos tipos de tejidos en una muestra de carne bovina recuperada mecánicamente procesadas en distintos contenedores.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Toma de muestras**

Se obtuvo una muestra de carne bovina recuperada mecánicamente en la planta del frigorífico Cledinor S.A., La Caballada (Salto).

Luego de realizados los cortes de media res y el desosado, se realizó la recuperación mecánica con un equipo de prensa y filtro DMM 50 Meat Harvester (Marel Meat Processing BV, Boxmeer, Holanda). La muestra se obtuvo desde una bandeja de salida de esta máquina, que recoge la carne recuperada mecánicamente. Se tomó con una cuchara grande una muestra, de la cual se separaron diez submuestras de aproximadamente un centímetro cúbico cada una. Una de las submuestras fue colocada en un frasco eppendorf (Eppendorf, Hamburgo, Alemania), con formol bufferado al 10%. Cuatro submuestras fueron envueltas en materiales porosos (papel filtro, papel permanente, bolsa de fermentación ruminal, bolsa de seda) para luego ser almacenadas en cassettes plásticos (Bioset, Montevideo, Uruguay). Las mismas se colocaron dentro de un recipiente con formol bufferado al 10%. Las cinco submuestras restantes fueron colocadas directamente en cassettes plásticos y luego colocadas en un recipiente con formol bufferado al 10%. Con los distintos contenedores se evitó que la carne mecánicamente recuperada se disgregara, durante el estudio histológico realizado.

### **Procedimiento**

#### **Fijación:**

Las submuestras se fijaron por inmersión en formol bufferado al 10 % (100ml de formaldehído 40 % en 900 ml de agua, con 4 gramos de fosfato monobásico de sodio y 6,5 gramos de fosfato dibásico de sodio disueltos previamente en el agua). Este método de fijación químico inhibe la actividad enzimática impidiendo la autólisis (Montalvo, 2012).

El tiempo de fijación fue de 72 horas, este tiempo depende de la muestra y del tipo de fijador utilizado. La formalina bufferada posee buen poder de penetración, oscila entre 0,3 a 0,9 mm/hora (Montalvo, 2012).

En el laboratorio de Histología de la Facultad de Veterinaria, pasado el tiempo de fijación, se tomaron cinco submuestras, dejando las restantes como respaldo inmersas en formalina. Se eligió la submuestra almacenada en eppendorf, tres almacenadas en materiales porosos y una almacenada directamente en cassette. Con las cinco submuestras elegidas se realizó un lavado pos fijación con agua corriente (durante toda una noche) para eliminar los residuos del fijador y evitar una posterior coloración incorrecta. Se retiraron de los cassettes, se removieron los materiales porosos de las submuestras envueltas en este y se retiró la submuestra del eppendorf, para colocarlas a todas en cassettes plásticos. A partir de este paso todas tendrán el mismo contenedor.

### **Impregnación e inclusión en parafina:**

#### **-Deshidratación**

Se realizaron baños sucesivos en mezclas de concentración creciente de etanol (70°, 96°, 100°) para eliminar el agua de las submuestras, así como lograr mayor consistencia de las mismas.

#### **-Aclaramiento o diafanización**

Las submuestras permanecieron 20 horas inmersas en cloroformo para eliminar el etanol. Se sustituyó el agente deshidratante por una sustancia miscible con el medio de inclusión (parafina). Estos líquidos intermediarios o diafanizadores, al interactuar con los tejidos, los volvieron incoloros.

#### **-Impregnación**

Impregnación en parafina a 60°C, por un lapso de dos horas en estufa modelo 50-EB (Labotecgroup, Shanghái, China).

## **- Inclusión en parafina**

La formación de los bloques se efectuó en la estación de inclusión, la cual consta de un equipo dispensador de parafina SLEE/MSP/P que tiene anexada una placa caliente para orientar el bloque disponiendo de más tiempo antes que solidifique la parafina, y una placa fría para lograr rápidamente su solidificación, una vez que la submuestra fue orientada adecuadamente. Los moldes utilizados fueron metálicos, lo que facilitó el enfriamiento, y en los mismos encajaron perfectamente los cassettes.

### **Microtomía:**

Al llegar a esta etapa la submuestra y la parafina forman parte de un solo bloque.

Con micrótopo de tipo Minot (de rotación) SLEE Mainz WT CUT 5062 (Mangucia, Alemania) se seccionaron los bloques obteniendo cortes histológicos de espesor adecuado (6 micrómetros) y translúcidos, que permiten su observación microscópica posterior. Se realizaron cortes seriados para analizar la estructura tridimensional, se evaluó un corte cada 40 desgastes (cortes). Este tipo de micrótopo es el más usado cuando se utilizan tejidos en parafina.

Las cuchillas utilizadas fueron MX 35 Premiere + Thermo scientific perfil bajo (Pennsylvania, Estados Unidos de América). Las láminas que se obtuvieron se presentaron arrugadas por lo que para estirarlas se utilizó un baño de flotación-Tissue Floating bath XH-1001 Premiere (Pennsylvania, Estados Unidos de América). Las secciones se depositaron en agua a 40-45°C, se separaron las mismas y se las recogió con vidrios portaobjetos. Ya colocadas las secciones en los portaobjetos, se secaron por 24 horas a temperatura ambiente.

### **Coloración con Hematoxilina y Eosina:**

Se utilizó esta tinción porque se considera la mejor para discernir núcleos y tejidos a partir de bloques de parafina.

El procedimiento consistió en desparafinar los cortes (dos pasajes por xilol), luego se hidrataron con baños de etanol en concentraciones decrecientes (100°, 95°, 70°). Se lavaron con agua destilada y se secaron en estufa.

Las soluciones colorantes utilizadas fueron previamente preparadas en el laboratorio de Histología a partir de reactivos componentes.

La tinción de los núcleos y células basófilas se realizó mediante hematoxilina (alumínica), se coloreó de azul, violeta o pardo oscuro en un tiempo de 3 a 5 minutos. Luego se efectuaron 2 baños en agua destilada de un minuto cada uno y se los dejó virar en agua corriente por 3 minutos. Se observaron al microscopio óptico, para evaluar la coloración y se secaron en estufa. En caso de presentar exceso de colorante se empleó etanol 70° (Montalvo, 2012).

Para teñir el citoplasma y el material extracelular se utilizó Eosina, que les proporcionó diversos grados de color rosa, en un tiempo de coloración de un minuto. Se observó al microscopio óptico, cuando se obtuvo el color deseado se secó en estufa y en caso de ser muy intenso se hizo un pasaje por etanol 70° (Montalvo, 2012).

Se completó la deshidratación de las preparaciones con etanol 100° y luego pasaron por dos baños de xilol.

### **Montaje:**

En la superficie central del corte coloreado se colocó una gota de bálsamo sintético (Entellan, San Sebastián, España), cuyos índices de refracción son similares a los del vidrio. Por encima del bálsamo se ubicó el cubre objetos con especial cuidado de no formar burbujas de aire que dificulten la posterior observación. Este paso protege el material y nos permite observarlo una infinidad de veces. Luego de montados los preparados se secaron en estufa a 37 °C por 24 horas, y se dejó a los preparados a temperatura ambiente por quince días, para que el cemento sintético fraguara correctamente.

## **-Observación microscópica**

Una vez prontos los preparados histológicos, se hizo un análisis cualitativo detallando los tejidos presentes, para esto se utilizó un microscopio óptico Olympus BX50 (Tokio, Japón) a distintos aumentos (4X, 40X, 100X), conectado a una videocámara digital (Infinity 1, Lumenera, Ottawa, Canadá) y a una pc conteniendo el software Infinity, módulos Capture y Analyze (Ottawa, Canadá). Se observaron proporciones altas de tejido muscular estriado y tejido adiposo, proporciones menores de tejido conjuntivo denso, laxo, cartilaginoso hialino y muy baja proporción de esquirlas óseas, encontradas tan sólo en algunas muestras.

Luego del análisis cualitativo se procedió a describir el volumen porcentual de los tejidos presentes. Para esto se obtuvo un mínimo de 30 imágenes por cada preparado histológico, utilizando la lente objetivo de menor aumento (4X). Sobre cada imagen se superpuso una grilla digital de 223 puntos. A cada punto se le asignó incidencia sobre los distintos tejidos (adiposo, muscular, tejidos conjuntivos laxos o densos, linfoides, cartilaginosos, óseos, hematopoyéticos, etc.) así como a artefactos no reconocibles o espacios vacíos.

La observación microscópica cuantitativa permite una evaluación objetiva de la cantidad (porcentaje del volumen de la muestra ocupado por cada tipo de tejido) de los distintos tejidos presentes en una muestra. La validez del método microscópico cuantitativo (estereología) está documentada y puede ser aplicado para análisis de alimentos (Bijker, 1983). El método consiste en colocar un patrón de puntos en forma de grilla y superponerla a la imagen, de esta forma se cuenta el número de puntos sobre los distintos componentes de la imagen (Hally, 1964). El principio de la técnica de conteo de puntos es superponer la cuadrícula en el campo microscópico y contar la frecuencia de aparición de los componentes que coinciden con los puntos (Bijker, 1983). El método es rápido, simple y preciso y no requiere equipos complejos (Hally, 1964).

En la Figura 1 se representa la modalidad del estudio, en la cual se contó 14 filas por 18 columnas comenzando por la derecha. De la columna dieciocho y de la fila catorce se contó solamente el primer punto. Por cada imagen se obtuvo 223 puntos, lo cual multiplicado por las 30 imágenes fueron 6690 puntos por preparado. Por cada submuestra se evaluó uno cada 40 cortes histológicos, lo que resultó de 4 a 8

preparados por submuestra. Promediando 6 preparados evaluados por cada submuestra, fueron en total 40140 puntos de evaluación por muestra.

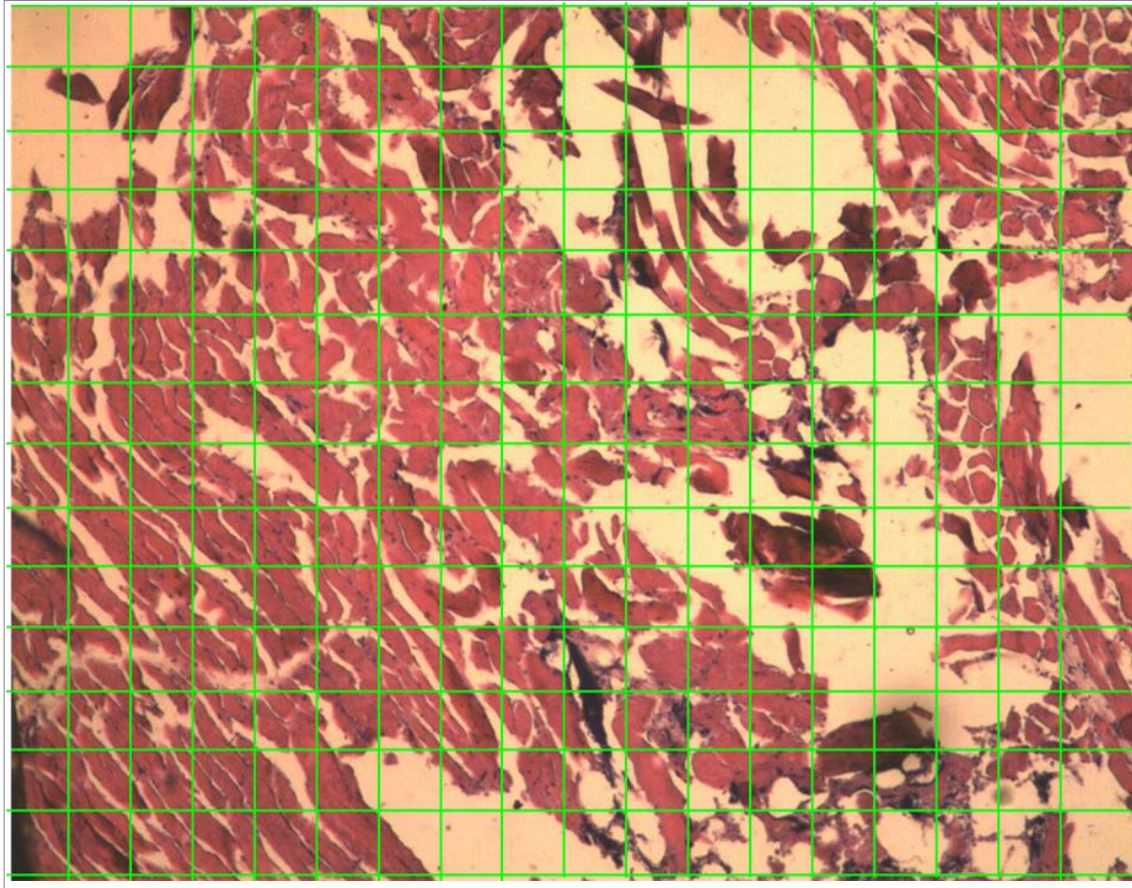


Figura N°1 imagen de preparado histológico con grilla superpuesta, a cada punto se le asignó incidencia sobre los distintos tejidos presentes en la imagen.

Una vez finalizado el análisis, se calculó los porcentajes para cada tejido restando los puntos correspondientes a vacíos y a artefactos desconocidos.

Con respecto a las esquirlas óseas se determinó la medida de longitud máxima, para esto se midió el largo de la esquirla de mayor tamaño. La medida fue tomada con una regla milimetrada (Dino-Lite Calibration Sample, AnMo Electronics Corporation, Taipei, Taiwán) utilizando el programa Infinity Analyze (Ottawa, Canadá).



## **Análisis estadístico**

Se determinó el volumen porcentual correspondiente a los distintos tipos de tejido (media +/- desvío standard) y las dimensiones de restos de tejido óseo para una muestra de carne bovina recuperada mecánicamente.

Se investigaron diferencias entre medias de volumen porcentual correspondientes a distintos tipos de tejido procesado en diferentes contenedores (anova de una sola vía,  $p < 0,05$ ).

## **RESULTADOS**

### **Observación a simple vista**

Con la utilización de cassettes de inclusión para tejidos, tubos eppendorf y materiales porosos tales como bolsas ruminales, bolsas de seda, papel de filtro y papel permanente, como continentes de las submuestras, no se observó desintegración ni pérdida de tejidos, luego de ser retirados de la solución fijadora de formaldehído. Se conservó la cantidad de los distintos tejidos, inclusive el adiposo.

### **Análisis cualitativo al microscopio óptico**

Se observaron los mismos tipos de tejido en las imágenes microscópicas obtenidas de las 5 submuestras. Los tejidos observados al microscopio fueron: tejido muscular, tejido adiposo, tejido hematopoyético, tejido óseo, tejido cartilaginoso, tejido conjuntivo laxo y tejido conjuntivo denso. Se reparó en que en la mayoría de las imágenes el tejido muscular fue el más abundante, seguido por el tejido adiposo. La fibra muscular mantuvo sin alteraciones su estructura celular. En todas las imágenes hubo presencia de fibras musculares seccionadas transversalmente, longitudinalmente y oblicuamente. Se distinguieron los núcleos de los diferentes tipos de células. Se visualizaron espacios vacíos en las imágenes y unos pocos artefactos de la técnica, tales como manchas y cristales.

En la Figura 2 se observa la integridad de las fibras musculares en sus distintos cortes y la presencia de tejido adiposo.

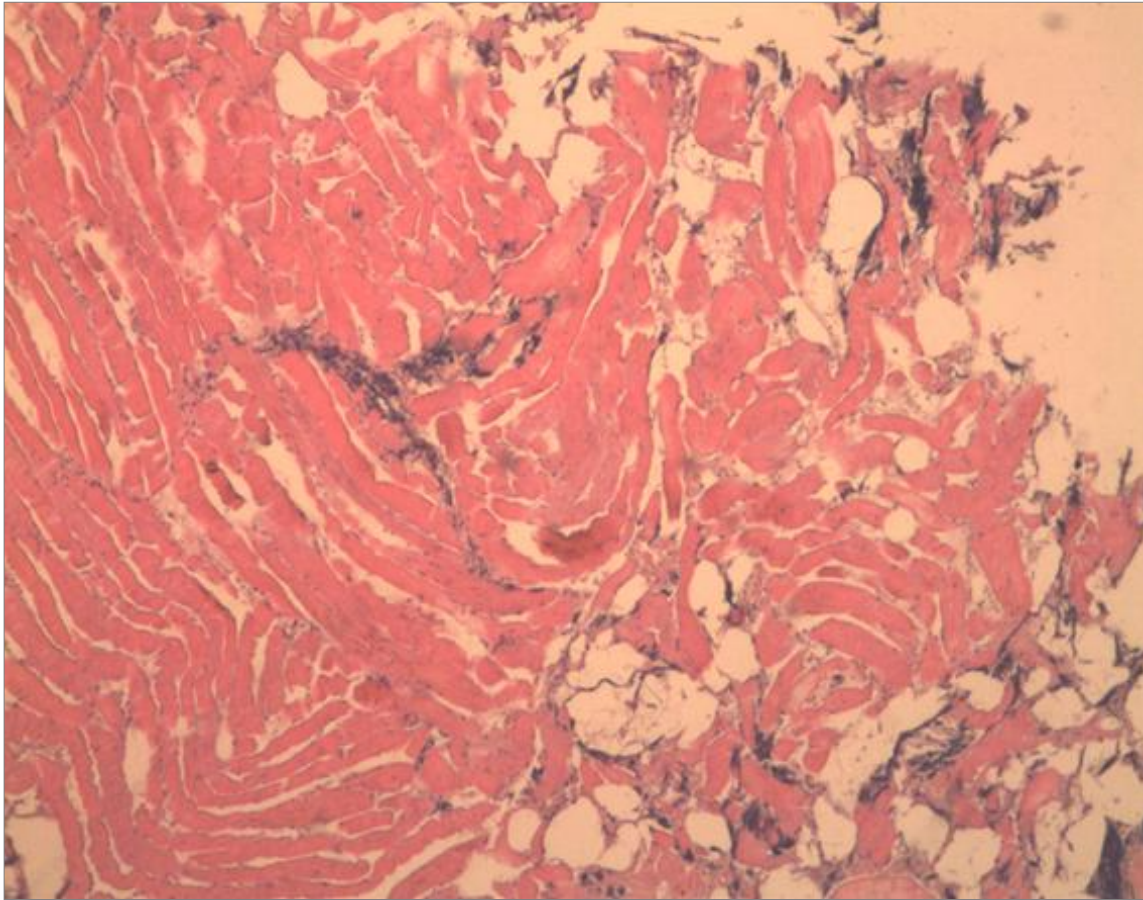


Figura 2. Imagen de preparado Bolsa Ruminal, se observan fibras musculares longitudinales, transversales y células adiposas.

### **Análisis Cuantitativo**

En la siguiente tabla se muestran los resultados (media $\pm$ ds) obtenidos del análisis cuantitativo de las submuestras de carne recuperada mecánicamente. Los valores están corregidos descontando vacíos e indefinidos. El tejido que predominó en los distintos contenedores fue el tejido muscular estriado esquelético.

Cuadro 3. Volumen porcentual de los distintos tipos de tejido según contenedor (media  $\pm$  desvío estándar).

	<b>B. rumen</b> (%)	<b>Cassettes</b> (%)	<b>Eppendorf</b> (%)	<b>B. seda</b> (%)	<b>P. histo</b> (%)
T. Muscular	69,58 $\pm$ 25,91	48,98 $\pm$ 20,96	38,14 $\pm$ 14,94	38,86 $\pm$ 22,54	49,71 $\pm$ 25,25
T. Adiposo	27,36 $\pm$ 15,93	25,75 $\pm$ 13,97	19,47 $\pm$ 15,74	35,65 $\pm$ 29,15	24,94 $\pm$ 18,53
T. Hematopoyético	10,85 $\pm$ 6,05	13,91 $\pm$ 8,36	3,65 $\pm$ 2,19	9,55 $\pm$ 12,70	13,17 $\pm$ 7,73
T. Cartilaginoso	2,83 $\pm$ 0	5,05 $\pm$ 5,78	20,62 $\pm$ 16,55	1,59 $\pm$ 0,87	10,83 $\pm$ 17,26
T. C. Denso	1,65 $\pm$ 1,55	3,74 $\pm$ 4,57	2,55 $\pm$ 2,90	3,86 $\pm$ 4,17	4,17 $\pm$ 7,58
T. C. laxo	3,57 $\pm$ 3,50	2,78 $\pm$ 2,14	3,46 $\pm$ 5,33	3,23 $\pm$ 3,38	5,24 $\pm$ 10,83
T. óseo	3 $\pm$ 6,85	5,31 $\pm$ 10,89	2,54 $\pm$ 2,94	1,49 $\pm$ 2,32	1,50 $\pm$ 0,97

No hubo diferencia significativa ( $p > 0,05$ ) en los volúmenes porcentuales detectados para distintos tejidos, cuando se comparó las submuestras procesadas en los diferentes contenedores utilizados.

Volúmenes porcentuales (medias  $\pm$  ds) ocupados por los distintos tejidos en una muestra de carne recuperada mecánicamente. Los valores fueron corregidos descontando el porcentaje correspondiente a vacíos y puntos que incidían sobre estructuras indefinidas (artefactos).

Cuadro 4. Volúmenes porcentuales ocupados por los distintos tejidos (medias  $\pm$  ds)

	<b>Incluyendo espacios vacíos (%)</b>		<b>Descartando espacios vacíos (%)</b>		<b>Descartando espacios vacíos e indefinidos (%)</b>	
T. Muscular	29,90	$\pm$ 14,93	45,85	$\pm$ 22,90	48,05	$\pm$ 24,49
T. Adiposo	16,14	$\pm$ 8,06	24,76	$\pm$ 12,37	26,08	$\pm$ 13,30
T. Hematopoyético	6,62	$\pm$ 3,31	10,16	$\pm$ 5,08	10,06	$\pm$ 5,09
T. Cartilaginoso	4,77	$\pm$ 2,40	7,32	$\pm$ 3,68	7,57	$\pm$ 4,13
T. Conjuntivo Denso	2,09	$\pm$ 1,04	3,21	$\pm$ 1,60	3,07	$\pm$ 1,58
T. Conjuntivo Laxo	2,26	$\pm$ 1,13	3,46	$\pm$ 1,73	3,14	$\pm$ 1,73
T. Óseo	2,13	$\pm$ 1,08	3,27	$\pm$ 1,66	2,09	$\pm$ 1,66
Tejido indefinido	1,29	$\pm$ 0,66	1,98	$\pm$ 1,01		
Espacios vacíos	34,80	$\pm$ 17,38				
Suma de las medias	100		99,99		100,06	

La figura N° 3 muestra la esquirla ósea de mayor tamaño, su mayor longitud fue de 0,503 mm. El número total de esquirlas óseas observadas en las 900 imágenes estudiadas fue de 108.

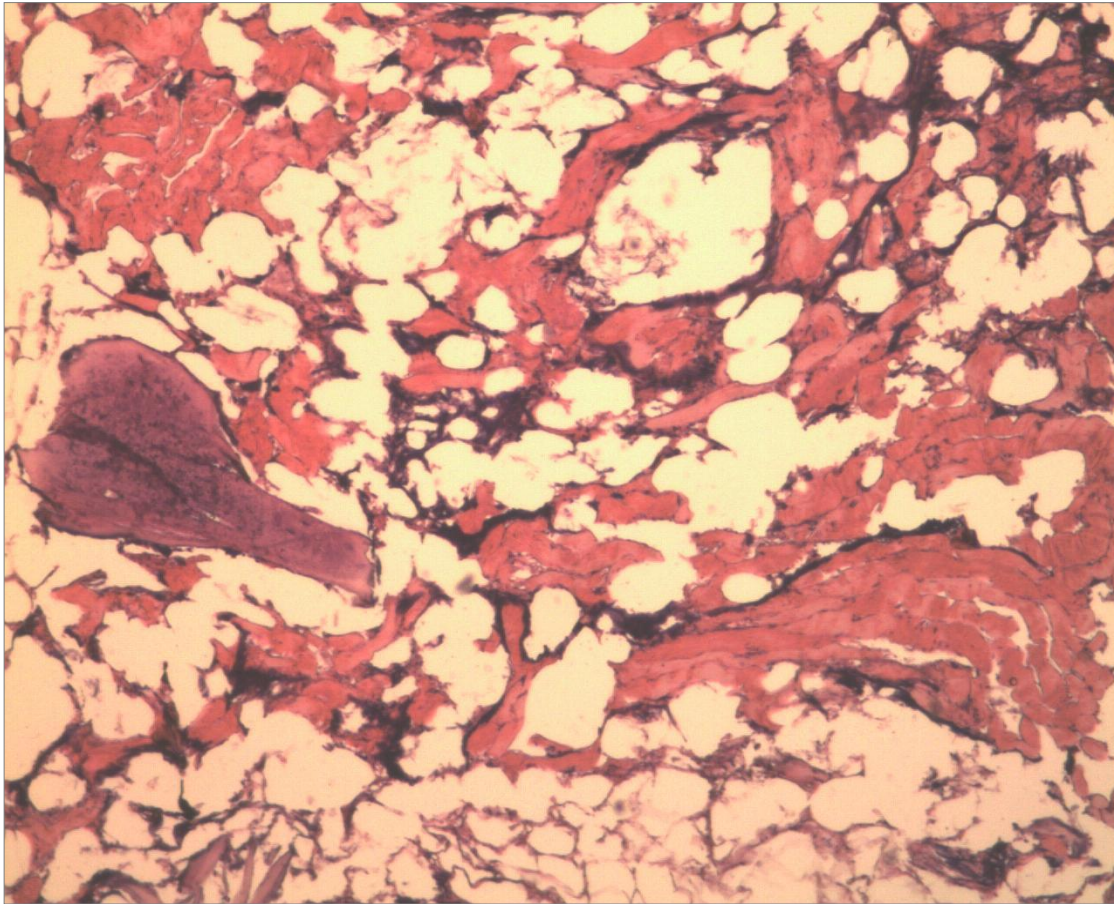


Figura N°3 Esquirla ósea de mayor dimensión entre las observadas en la evaluación (estructura en forma de matraz, a la izquierda de la imagen).

## DISCUSIÓN

Según lo observado en el estudio, con respecto a la estructura histológica del tejido muscular esquelético, se encontró largos haces de fibras musculares, fibras musculares intactas y algunas de ellas fragmentadas. En cuanto al tejido adiposo, se evidenció la presencia de aglomerados de células adiposas. La mayoría de ellas estaban intactas y otras mostraban discontinuidad en su membrana celular. El producto en estudio no correspondió a la microestructura descrita para la carne recuperada mecánicamente tradicional, ya que esta última pierde la integridad de las fibras musculares y a su vez no se presentan en conjunto. En la carne recuperada mecánicamente tradicional, las células del tejido adiposo se presentan rotas y aisladas, lo cual afirma que el producto en estudio no corresponde a esta definición. Por otra parte, la microestructura de la carne picada no es similar a la observada en los preparados de este estudio, ya que en la carne picada no se observa interrupción de fibras musculares y tampoco células adiposas rotas. Basado en los resultados obtenidos y en la comparación con este estudio, este producto concuerda con la descripción de la microestructura histológica de la DMM (Koolmees, 1999). La estructura del tejido muscular de la carne recuperada mecánicamente se conserva debido a la baja presión (50 a 100 bares) utilizada y a los gruesos filtros (6 a 10 mm) presentes en la máquina (Marel, 2012).

Interpretando los resultados obtenidos de los volúmenes porcentuales de los diferentes tejidos, se observó que los mismos no fueron modificados por los distintos contenedores utilizados.

El tejido que predominó fue el tejido muscular esquelético con una media porcentual de  $48,05 \pm 24,49$  %, aproximándose al 50% de total de tejidos observados. Esto indica la alta calidad del producto por su alto valor proteico. En carne recuperada mecánicamente de suinos, el valor de tejido muscular esquelético fue mayor (74 %) (Bijker, 1983). Tal vez esto se deba a que los huesos de menor tamaño que tienen los cerdos, hacen un poco más difícil la recuperación manual de la carne, por lo que quedaría más carne disponible contra el hueso, para ser recuperada por la máquina.

El volumen porcentual de tejido óseo fue de  $2,09 \pm 1,66$  %. No existe bibliografía que describa el porcentaje de tejido óseo en carne recuperada mecánicamente de bovinos. La normativa de SENASA y MGAP para aves determina un valor máximo

de 1 % para la presencia de hueso sólido en carne recuperada mecánicamente. El parámetro que está relacionado al tejido óseo es el contenido de calcio, siendo el valor máximo permitido en nuestro país 0,75 % referido a materia seca, para carne recuperada mecánicamente de suinos, rumiantes y equinos. En aves, un 75% de contenido cálcico es equivalente a un 3% de tejido óseo (De Gouvêa, 2007). En un estudio realizado para establecer la composición histológica de carne recuperada mecánicamente de suinos, utilizando como materia prima mezcla de partes anatómicas de esta especie, se obtuvo una media porcentual de 1,9 % y un desvío estándar de 1,1 para tejido óseo (Bijker, 1983). Analizando los resultados obtenidos y la bibliografía consultada, suponemos que el porcentaje de tejido óseo se ve afectado por las características de la materia prima. Las características de las materias primas que más impacto tienen son: la relación carne-hueso, la edad del animal, la especie y la parte anatómica utilizada (De Gouvêa, 2007).

Se cuantificó un total de 108 esquirlas óseas. La esquirla de mayor tamaño midió 0,503 mm, tomando como referencia la normativa uruguaya que establece un límite máximo de 0,5 mm, estaría dentro del límite aceptado (MGAP, 2008). El tamaño de las esquirlas óseas está principalmente determinado por el diámetro de las aberturas del filtro de la máquina recuperadora de carne (Bijker, 1983). El tamaño de las esquirlas óseas debe ser controlado, ya que un tamaño mayor al permitido puede afectar las características sensoriales del alimento y causar daño físico al consumidor.

Se encontró un  $10,06 \pm 5,09$  % de tejido hematopoyético, el mismo puede estar relacionado a la médula ósea roja presente en el interior de los huesos esponjosos. Se observó un volumen porcentual considerable de tejido hematopoyético pero no creemos que esto sea un aspecto negativo, ya que puede aportar mayor cantidad de hierro.

Con respecto al tejido adiposo, el volumen porcentual fue de  $26,08 \pm 13,30$  %. Este valor se encuentra dentro de lo establecido por la legislación nacional, la cual toma como límite máximo para el tejido adiposo un 30% (MGAP, 2008). Comparando el resultado obtenido de tejido adiposo con los permitidos para carne picada común, consideramos que no son muy lejanos ya que para esta última se permite hasta un 20% de contenido graso. Suponemos que se podría disminuir el porcentaje de grasa



mezclando este producto con carne picada magra. No encontramos referencias bibliográficas que analicen el contenido de tejido adiposo de carne recuperada mecánicamente de bovinos. Comparando con estudios realizados en carne recuperada mecánicamente de aves, se evidenció similitud en los valores de tejido adiposo. En carne recuperada mecánicamente de aves, el porcentaje de tejido adiposo varía entre 18,3 a 26,2 % (De Gouvêa, 2007). La media porcentual de tejido adiposo para carne recuperada mecánicamente de suinos es de  $31,6 \pm 3,9$  % el cual supera el valor obtenido para carne recuperada mecánicamente de bovinos (Bijker, 1983).

Se encontró poca información científica sobre carne recuperada mecánicamente de bovinos. Consideramos que este estudio es un punto de partida para la temática de carne recuperada bovina, ya que determina los tejidos presentes y los volúmenes porcentuales de los mismos, en las condiciones de trabajo de una planta frigorífica uruguaya. A nuestro entender es pertinente continuar en esta línea de investigación, realizando estudios microbiológicos y de contenido cálcico. De esta manera se podrá evaluar la posibilidad real de utilizar la carne recuperada mecánicamente como fuente de proteína alimenticia para humanos, sin que ésta esté necesariamente sometida a un proceso de industrialización.

## CONCLUSIONES

En base a los resultados de este estudio, se puede concluir que los tejidos que componen la carne recuperada mecánicamente, de la muestra obtenida son, tejido muscular esquelético, tejido adiposo, tejido cartilaginoso, tejido conjuntivo denso, tejido conjuntivo laxo, tejido óseo y tejido hematopoyético.

Según los resultados obtenidos de este estudio, el tejido que predominó fue el tejido muscular esquelético, con una media porcentual de  $48,05 \pm 24,49$  %, seguido por tejido adiposo  $26,08 \pm 13,30$  %, tejido hematopoyético  $10,06 \pm 5,09$  %, tejido cartilaginoso  $7,57 \pm 4,13$  %, tejido conjuntivo laxo  $3,14 \pm 1,73$  %, tejido conjuntivo denso  $3,07 \pm 1,58$  % y tejido óseo  $2,09 \pm 1,66$  %.

Las 108 esquirlas óseas observadas tuvieron dimensiones menores a 0,503mm.

El tamaño de las esquirlas óseas observadas en las submuestras analizadas se encontró dentro de los límites especificados en la reglamentación vigente para nuestro país.

Los distintos continentes utilizados para las submuestras no afectaron los volúmenes porcentuales de los diferentes tejidos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bijker PGH, Koolmees PA, Van Logtestijn JG, (1983). Tissue composition of mechanically deboned pork. *Meat Science*, 9:257-269.
2. Carpenter KJ, (1984). Possible importance of protein digestibility and bioavailability of amino acids. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 40:704-710.
3. Chang Yet-oy y Field Ray A, (1977). Protein utilization of mechanically deboned meat by growing rats. *The Journal of Nutrition*, 107:1947-1953.
4. Codex Alimentarius, (2005). Código de prácticas de higiene para la carne, Disponible en:  
[www.codexalimentarius.org/input/download/standards/.../CXP\\_058s.pdf](http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/.../CXP_058s.pdf). Fecha de consulta: 1/11/2014.
5. Comisión Europea, (2010). Communication from the commission to the European parliament and the council, on the future necessity and use of mechanically separated meat in the European Union, including the information policy towards consumers. Disponible en:  
[http://ec.europa.eu/dgs/health\\_consumer/docs/msm\\_report\\_20101202\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/dgs/health_consumer/docs/msm_report_20101202_en.pdf), Fecha de consulta: 17/11/2014.
6. Crawford LM, (2002). Advanced meat recovery systems. Disponible en:  
[http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FRPubs/AMR\\_%20Lester\\_M\\_Crawford\\_Paper.pdf](http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FRPubs/AMR_%20Lester_M_Crawford_Paper.pdf). Fecha de consulta: 5/11/2014.
7. De Gouvêa JAG, Lima AA, (2007). Carne mecánicamente separada, Rede de Tecnologia da Bahia, RETEC/BA, Dossiê Técnico, 27p.
8. FAO, (2012). Departamento de agricultura y protección del consumidor, Consumo de carne. Disponible en:  
<http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/background.html>, Fecha de consulta: 2/11/2014.

9. Food standards agency UK, (2010). The production of meat preparations obtained by desinewing meat. Disponible en:  
<http://www.food.gov.uk/sites/default/files/multimedia/pdfs/desinewinginfonote.pdf>  
Fecha de consulta: 2/11/2014.
10. Food safety authority of Ireland, (2009). Mechanically separated meat. Disponible en:  
[http://www.fsai.ie/legislation/food\\_legislation/meat\\_products/mechanically\\_seperated\\_meat.html](http://www.fsai.ie/legislation/food_legislation/meat_products/mechanically_seperated_meat.html). Fecha de consulta: 18/11/2014.
11. Hally D A, (1964). A counting method for measuring the volumes of tissue components in microscopical sections. Quarterly Journal of Microscopical Science, s3-105:503-517.
12. Uruguay. Decreto N° 215/006 del Poder Ejecutivo de 3 de julio de 2006 - Disponible en: [http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/2014/1/decreto\\_215-06\\_de\\_3.7.06.pdf](http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/2014/1/decreto_215-06_de_3.7.06.pdf). Fecha de consulta: 22/7/2014.
13. INAC, (2014). Anuario estadístico 2013. Disponible en:  
[http://www.inac.gub.uy/innovaportal/v/9245/1/innova.net/anuario\\_estadistico\\_2013](http://www.inac.gub.uy/innovaportal/v/9245/1/innova.net/anuario_estadistico_2013). Fecha de consulta: 5/8/2014.
14. Koolmees PA, (1999). Histological examination of desinewed minced meat, Universiteit Utrecht, 2p.
15. Marel, (2012). DMM Low pressure harvesting of high quality meat. Disponible en: [http://marel.com/files/pdf/dmm\\_bro\\_oct12\\_eng.pdf?ind=meat](http://marel.com/files/pdf/dmm_bro_oct12_eng.pdf?ind=meat). Fecha de consulta: 21/10/2012.
16. Marel, (2012). DMM obtención de carne de alta calidad a baja presión. Disponible en: [http://marel.com/files/pdf/dmm\\_bro\\_oct12\\_esp.pdf?ind=meat](http://marel.com/files/pdf/dmm_bro_oct12_esp.pdf?ind=meat). Fecha de consulta: 6/11/2014.
17. MGAP, (2008). Dirección general de servicios ganaderos, División industria animal. Disponible en:  
<http://www.mgap.gub.uy/dgsg/ComitedelImportaciones/CarneRecuperadaMec%C3%A1nicamente.pdf>. Fecha de consulta: 23/10/2014.

18. MGAP, (2014). Anuario estadístico agropecuario. Disponible en:  
<http://www.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,diea,diea-anuario-2013,O,es,0>,  
Fecha de consulta: 5/9/2014.
19. Ministério da agricultura e do abastecimento, Secretaria de defesa agropecuária, (2000). Instrução normativa Nº 4. Disponible en:  
<http://www.defesaagropecuaria.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=662>. Fecha de consulta: 10/11/2014.
20. Montalvo CE, (2012). Técnica Histológica. Disponible en:  
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/recursos%20instructores/APUNTE%20DE%20TECNICA%20HISTOLOGICA%20Dr.%20Montalvo.pdf>. Fecha de consulta: 27/10/2014.
21. Newman P B, (1981). The separation of meat from bone- a review of the mechanics and the problems. Meat Science,5 (3): 171-200.
22. SENASA Argentina, (2003). Resolución 368/2003. Disponible en:  
<http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=1033&io=5373>. Fecha de consulta: 1/11/2014.
23. Studd J W W y Whitehead M I, (1990). Menopausia.España, Barcelona, Carlos Andrade, 348 p.
24. Uruguay XXI, (2014). Informe de comercio exterior de Uruguay año 2013. Disponible en: <http://www.uruguayxxi.gub.uy/wp-content/uploads/2011/11/Informe-de-Comercio-Exterior-de-Uruguay-A%C3%B1o-2013.pdf>. Fecha de consulta: 20/10/2014.