



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



TESIS DE MAESTRÍA

*Evaluación de los porcentajes de retención de hierro,
cobre y zinc en carne vacuna según su modo de cocción
y posibles modificaciones de hierro biodisponible
(hierro hemo)*

Ing. Quím. Analía Suárez

Directores de Tesis:

Dra. Mariela Pistón

Dr. Luis Panizzolo

**Área Química Analítica - DEC
Ciencia y Tecnología de Alimentos - CYTAL**

**Facultad de Química
Universidad de la República**

**Montevideo, Uruguay
2021**



AGENCIA NACIONAL
DE INVESTIGACIÓN
E INNOVACIÓN

POS_NAC_2018_1_151560



CARRERA DE POSGRADO	Maestría en Química		
ESTUDIANTE	NOMBRE: Analía Suárez	C.I. 4.672.312-9	
DEFENSA:	LUGAR Facultad de Química	FECHA 19/05/2021	HORA 9:00
TÍTULO DE TESIS:	Evaluación de los porcentajes de retención de hierro, cobre y zinc en carne vacuna según su modo de cocción y posibles modificaciones de hierro biodisponible (hierro hemo)		
DICTAMEN ¹	JUICIO EXCELENTE	NOTA 12	

FUNDAMENTACIÓN:

El Tribunal habiendo analizado la tesis en profundidad considera:

La tesis de maestría presentada por la Ing. Quím. Analía Suárez (CI:4.672.312-9) "Evaluación de los porcentajes de retención de hierro, cobre y zinc en carne vacuna según su modo de cocción y posibles modificaciones de hierro biodisponible (hierro hemo)", dirigida por los Dres. Mariela Pistón y Luis Panizzolo se trata de un interesante trabajo en la interface de la química analítica y de alimentos. Se considera que su diseño experimental fue adecuado y que se ejecutó correctamente. El trabajo incluyó la puesta a punto de metodologías analíticas y el análisis de una cantidad importante de muestras para poder cumplir los objetivos planteados. Los resultados están correctamente presentados y discutidos, fundamentando ampliamente las conclusiones a las que se arriba. El trabajo en general está bien escrito, la bibliografía es adecuada, poniendo en contexto los resultados encontrados. Esta tesis representa un aporte al conocimiento, que podrá ser retomado por investigadores de otras áreas así como del sector productivo. Originó presentaciones en congresos y publicaciones en revistas referadas. La presentación oral fue correcta y contestó satisfactoriamente a las preguntas realizadas por el tribunal. Por lo expuesto anteriormente se considera que la tesis presentada es ampliamente satisfactoria, otorgándose la nota de **EXCELENTE** (12).

DIRECTORES DE TESIS
 (nombres y firmas)



Dra. Mariela Pistón



Dr. Luis A. Panizzolo

TRIBUNAL
 (nombres y firmas)



Dra. Gianella Facchin



Dra. Analía Pérez Ruchel



Dr. Tomás López

¹ La Tesis podrá resultar
 a) Aprobada con dictamen fundado: satisfactoria (6), muy satisfactoria (9) o excelente (12)
 b) Rechazada con dictamen fundado.

Montevideo, 21 de mayo de 2021.

Sra. Sara Goldberg
Gerente de Operaciones
Agencia Nacional de Investigación e Innovación

Se hace constar que la estudiante Analía Suárez Giosa, C.I. 4672312-9 ha cumplido con todas sus actividades para completar sus estudios en el Programa de Posgrado de la Facultad de Química. La estudiante realizó su Defensa Final de Tesis el día 19/05/2021, aprobando con 12 (excelente). Cabe agregar que la estudiante se encuentra en condiciones de solicitar su título de Magíster en Química


LUCIA URRUTIA
JEFE DE SECCION
Depto. Administración de la Enseñanza



Agradecimientos

A mis directores, Dra. Mariela Pistón y Dr. Luis Panizzolo, por brindarme la oportunidad de realizar esta tesis, por su apoyo y orientación brindándome su conocimiento, buena disposición y trabajar par a par conmigo en varias ocasiones.

Al Chef y Prof. Marcelo Cerminara por la realización de las cocciones de las muestras. (IMERL, Facultad de Ingeniería; DMMCC, Facultad de Ciencias Económicas, Universidad de la República).

A mis compañeros de Química Analítica, quienes me han apoyado.

A Valentina Meléndrez y Fabián Bermúdez por su ayuda con los tratamientos de preparación de muestras.

A la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) y su Programa Vinculación Universidad - Sociedad y Producción (VUSP) por apoyar este proyecto.

Al Instituto Nacional de Carnes (INAC), al Frigorífico Pando - Ontilcor S.A por proporcionar las muestras. Al Ing. Carlos Méndez (INAC, Gerencia de Contralor, Área de inocuidad), Dr. Juan Burghi (INAC) y la Ing. Paz Xavier (INAC) por su colaboración en la obtención de las muestras.

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por otorgarme una Beca de Posgrado (POS_NAC_2018_1_151560).

Índice General

Agradecimientos	1
Índice General	2
Índice de Figuras	5
Índice de Tablas	7
Listado de Abreviaturas	8
Resumen	11
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....	13
1.1. Oligoelementos	13
1.1.1. Cobre (Cu)	16
1.1.2. Cinc (Zn)	17
1.1.3. Hierro (Fe)	18
1.1.3.a. Especiación. Fe-Hemo	19
1.2. Carne vacuna.....	20
1.2.1 Importancia y características de la carne vacuna	21
1.2.1.a. Calidad y transformación del músculo en carne	22
1.2.1.b. Pigmentos de la carne vacuna, fuente de hierro.	22
1.2.2 Tipos de cortes, justificación de la elección.....	24
1.2.3 Formas y Puntos de cocción. Importancia de los tratamientos térmicos.....	28
1.2.3.a. Factores de ganancia o pérdida de nutrientes debido a la cocción en alimentos.....	34
1.2.4 Ganadería.....	38
1.2.4.a. Trazabilidad	38
1.2.4.b. Alimentación	39
1.2.4.c. Razas.....	40
1.3. Análisis de oligoelementos	41
1.3.1. Método de preparación de muestras mediante extracción asistida con microondas	42
1.3.2. Métodos instrumentales de análisis	44
1.3.2.a. Espectrometría molecular UV-Visible	44
1.3.2.b. Espectrometría atómica.....	46
1.3.2.b.1. Espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS).....	47
1.3.2.b.2. Espectrometría de emisión atómica óptica mediante plasma inducido por microondas (MIP-OES).....	47
1.3.3. Validación.....	49
1.4. Justificación.....	51

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS DE LA TESIS	52
2.1. Objetivo general.....	52
2.1.1. Objetivos específicos.....	52
CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS	53
3.1. Muestras de carne vacuna	53
3.1.1 Recepción y acondicionamiento de muestras	55
3.1.2 Método de cocción	57
3.2 Reactivos, instrumentación e instalaciones.....	61
3.2.1 Reactivos	61
3.2.2. Instrumentos.....	62
3.3. Determinación de humedad de muestras de carne	64
3.4. Preparación de muestras para las determinaciones analíticas de Fe, Cu y Zn	65
3.4.1. Método de digestión asistido con microondas (MW)	65
3.5. Determinaciones analíticas de Fe, Cu y Zn en muestras de carne cruda y cocida mediante Espectrometría de Absorción Atómica de Llama (FAAS).....	66
3.5.1. Validación.....	67
3.6. Determinaciones analíticas de Fe, Cu y Zn en muestras de carne cruda y cocida mediante Espectrometría de Emisión Atómica mediante Plasma Inducido por Microondas (MIP-OES).....	68
3.6.1. Validación.....	69
3.7. Determinación de Fe Hemo en muestras de carne cruda y cocida	69
3.7.1. Validación.....	72
3.8. Determinación del porcentaje de retención.....	74
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	75
4.1. Determinación de Fe, Cu y Zn en muestras de carne cruda y cocida.	75
4.1.1. Optimización de las condiciones de digestión asistida por MW.....	75
4.1.2. Determinaciones analíticas realizadas utilizando Espectrometría de Absorción atómica de Llama (FAAS)	75
4.1.2.a. Validación.....	75
4.1.3. Determinaciones analíticas realizadas utilizando MIP-OES.....	76
4.1.3.a. Validación.....	76
4.1.4. Contenido de oligoelementos en carne vacuna cruda y cocida	78
4.1.5. Porcentaje de retención de oligoelementos.....	80
4.2. Determinación de Fe Hemo en muestras de carne vacuna cruda y cocida.....	82
4.2.1. Optimización de las condiciones de extracción.	82
4.2.2. Validación.....	83

4.2.3. Contenido de Fe Hemo en los cortes carne vacuna cruda y cocida	85
4.3. Niveles totales de los elementos	88
4.3.1. Cobre	88
4.3.1.a. Comparación de valores obtenidos en el trabajo respecto a bibliografía	88
4.3.1.b. Niveles de Cu obtenidos según cortes y cocciones.....	89
4.3.1.c. Porcentaje de Retención de Cu	89
4.3.2. Zinc.....	91
4.3.2.a. Comparación de valores obtenidos en el trabajo respecto a bibliografía	91
4.3.2.b. Niveles de Zn obtenidos según cortes y cocciones.....	91
4.3.2.c. Porcentaje de Retención de Zn	92
4.3.3. Hierro	93
4.3.3.a. Comparación de valores obtenidos en el trabajo respecto a bibliografía	93
4.3.3.b. Niveles de Fe obtenidos según cortes y cocciones.....	94
4.3.3.c. Porcentaje de retención de Fe	94
4.4. Perfil nutricional e ingesta diaria	95
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	98
5.1 Conclusiones	98
5.2 Perspectivas	99
CAPÍTULO 6. PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES.....	101
6.1. Publicaciones y presentaciones en eventos	101
6.1.1. Trabajos publicados	101
6.1.2. Trabajos presentados en eventos.....	101
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103
GLOSARIO.....	126
ANEXO I	129
ANEXO II	140
Estudio de los resultados por terminación	141
Hereford.....	143
Aberdeen Angus.....	144
ANEXO III	145

Índice de Figuras

Figura 1. Molécula de Hierro Hemo.....	19
Figura 2. Procesos de transformación de la mioglobina. (Fuente: Faustman, 1990).	24
Figura 3. Frecuencia relativa de consumo de carne en la canasta de Uruguay. (Fuente: INAC)	25
Figura 4. Identificación individual del ganado vacuno.....	39
Figura 5. Sistema intensivo (01), sistema extensivo (02).....	40
Figura 6. Ganado vacuno de raza Hereford (01) y raza Aberdeen Angus (02)	41
Figura 7. Mapa político de Uruguay con la cantidad de animales analizados en el presente estudio según su procedencia y terminación.	54
Figura 8. Recepción de las muestras de carne vacuna.	55
Figura 9. Acondicionamiento de las muestras.....	56
Figura 10. Procesado de muestras.....	56
Figura 11. Envasado de muestras de carne molida cruda en tubos de polipropileno.....	57
Figura 12. Cocciones en Instalaciones del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CyTAL).	58
Figura 13. Asado antes (01) y luego del sellado en la plancha (02, 03).	60
Figura 14. Cortes antes y después del sellado en plancha.	60
Figura 15. Imágenes de los cortes Asado, Cuadril y Bola de lomo) en los dos grados de cocción estudiados.....	61
Figura 16. Digestor de microondas (CEM, Mars 6).	63
Figura 17. Equipo Espectrometría Absorción Atómica de Llama (AAAnalyst 200 Perkin Elmer).....	63
Figura 18. Equipo de Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Inducido por Microondas. (Agilent 4210 MIP OES).....	64
Figura 19. Secado de las muestras.....	65
Figura 20. Digestión de muestras de carne vacuna cruda y cocida.	66
Figura 21. Proceso de determinación de Fe Hemo (Primera parte)	71
Figura 22. Proceso de determinación de Fe Hemo (segunda parte).	72
Figura 23. Proceso de determinación de Fe Hemo (tercera parte).	72
Figura 24. Espectro de Hierro Hemo.	73
Figura 25. Contenido de elementos (mg kg ⁻¹) en los diferentes cortes de carne vacuna y sus cocciones.....	79
Figura 26. Porcentajes de retención de elementos (%) en carne vacuna.....	81

Figura 27. Superficie de respuesta para las variables tiempo de agitación (s) y de maceración (min).	82
Figura 28. Curva obtenida mediante diluciones del patrón de Hemina	84
Figura 29. Niveles de Fe Hemo (mg en 100 gramos de carne vacuna cruda en base húmeda) reportados por publicaciones nacionales e internacionales.	85
Figura 30. Contenido de Hierro hemo (mg kg-1 en base seca) por corte de carne y cocción (n=40). .	87
Figura 31. Niveles de cobre (mg en 100 gramos de carne vacuna cruda en base húmeda) reportados por publicaciones nacionales e internacionales.	88
Figura 32. Contenido de cobre (mg kg-1 en base seca) por corte de carne y cocción (n=40).....	89
Figura 33. Porcentaje de retención de cobre por corte de carne vacuna y por cocción (n=40)	90
Figura 34. Niveles de cinc (mg en 100 gramos de carne vacuna cruda en base húmeda) reportados por publicaciones nacionales e internacionales.	91
Figura 35. Contenido de Zn (mg kg-1 en base seca) por corte de carne vacuna y por cocción (n=40).	92
Figura 36. Porcentaje de retención de Zn por corte de carne vacuna y por cocción (n=40).....	93
Figura 37. Niveles de hierro (mg en 100 gramos de carne vacuna cruda en base húmeda) reportados por publicaciones nacionales e internacionales.	93
Figura 38. Contenido de Fe (mg kg-1 en base seca) por corte de carne vacuna y cocción (n=40).....	94
Figura 39. Porcentaje de retención de Fe por corte de carne vacuna y por cocción (n=40).....	94
Figura 40. Porcentaje de IDR de Zn cubierto por 100 g de carne según corte y cocción.	96
Figura 41. Porcentaje de IDR de Fe cubierto por 100 g de carne vacuna según corte y cocción.	96
Figura 42. Porcentaje de IDR de Cu cubierto por 100 g de carne vacuna según corte y cocción.....	97

Índice de Tablas

Tabla 1. Macro y microelementos.	13
Tabla 2. Niveles de Cu, Zn, Fe, Fe Hemo en carne vacuna cruda reportados en varias publicaciones. 15	
Tabla 3. Importancia del Cobre (Cu)	16
Tabla 4. Importancia del Cinc (Zn)	17
Tabla 5. Importancia del Hierro (Fe)	18
Tabla 6. Pigmentos en carne fresca y cocida.	23
Tabla 7. Descripción de cortes (Fuente: Manual de carnes del Instituto Nacional de Carnes, INAC). . 27	
Tabla 8. Puntos de cocción de carne bovina.....	29
Tabla 9. Métodos de cocción.	31
Tabla 10. Contenido de hierro total, hierro hemo (FeH), hierro no hemo (Fe NH) en carnes crudas y cocidas mg/100 g peso fresco (Lombardi-Boccia et al., 2002a)	45
Tabla 11. Porcentaje de hierro hemo en hierro total crudo y carne cocida (Lombardi-Boccia et al., 2002a)	46
Tabla 12. Condiciones de tiempos y temperaturas para los grados de cocción utilizados en los tres cortes de carne vacuna.	59
Tabla 13. Condiciones operativas de las (AOAC 950.45).de hierro, cobre y cinc mediante espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS).....	67
Tabla 14. Condiciones operativas de las determinaciones de hierro, cobre y cinc mediante Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Inducido por Microondas (MIP-OES).	69
Tabla 15. Cifras de mérito obtenidas en FAAS.....	76
Tabla 16. Cifras de mérito obtenidas mediante MIP-OES.....	78

Listado de Abreviaturas

ADN: Ácido Desoxirribonucleico.

ADR: Aportes Dietéticos Recomendados.

ANOVA: (*Analysis Of Variance*) Análisis de Varianza

AOAC: International Association of Official Analytical Chemists.

ARN: Ácido Ribonucleico.

ASTM: (*American Society for Testing and Materials*) Sociedad Americana para Pruebas y Materiales

CCD: (*Charge-coupled device*) Dispositivo de carga acoplada. Es un circuito integrado que contiene un número determinado de condensadores enlazados o acoplados.

CEE: Comunidad Económica Europea.

CLA: (*Conjugated Linoleic Acid*) Ácido Linoleico Conjugado.

CRA: Capacidad de Retención de Agua.

CRM: (*Certificate Reference Material*), Material de Referencia Certificado.

CSIC-VUSP: Comisión Sectorial de Investigación Científica-Vinculación Universidad Sector Productivo

CyTAL: Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

DEC: Departamento Estrella Campos.

DIEA: Dirección de Estadísticas Agropecuarias.

DMMCC: Departamento de Métodos Cuantitativos

EGN: Encuesta Ganadera Nacional.

EPA: (*Environmental Protection Agency*), Agencia de Protección Ambiental.

ETA: Enfermedad de Transmisión Alimentaria.

FAAS: (*Flame Atomic Absorption Spectrometry*): Espectrometría de Absorción Atómica de Llama.

FAO: (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*): Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

FDA: (*Food and Drug Administration*): Administración de Alimentos y Drogas.

FID: (*Flame Ionization Detector*): Detector de Ionización de Llama.

GABA: Guía Alimentaria Basadas en Alimentos.

GATPREM: Grupo de Análisis de Elementos Traza y Desarrollo de Estrategias Simples para Preparación de Muestras, del Área de Química Analítica de la Facultad de Química UdelaR

HACCP: (*Hazard Analysis and Critical Control Points*) Sistema que soporta mediante el análisis y control de los puntos críticos definidos, la performance de todos los procedimientos que impactan directa o indirectamente en el proceso y en el producto final.

HPLC: (*High Performance Liquid Chromatography*) Cromatografía Líquida de Alta Eficacia

ICH: International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use.

IICA: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.

ICP: (*Inductive Coupled Plasma*) Plasma de acoplamiento inducido.

IDA: Ingesta Diaria Admitida.

IDR: Ingesta Diaria Recomendada.

IMERL: Instituto de Matemática y Estadística Rafael Laguardia

INAC: Instituto Nacional de Carnes.

INIA: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria.

ISO: (International Standardization Organization): Organización Internacional de Estandarización.

IUPAC: (*International Union of Pure and Applied Chemistry*): Unión Internacional de Química Pura y Aplicada.

LC: Límite de cuantificación.

LD: Límite de Detección.

MC: Muy cocido. Se refiere al mayor grado de cocción de la carne que se buscó lograr en el presente estudio.

MIP: Plasma Inducido por microondas.

MIP-OES: Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry.

MSP: Ministerio de Salud Pública.

MVOTMA: Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente.

MW: (*Microwaves*) Microondas.

NIH: National Institute of Health.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PC: Poco cocido. Se refiere al menor grado de cocción de la carne que se buscó lograr en el presente estudio.

PF: Peso Fórmula.

PP: Polipropileno.

PPM: Partes por millón.

PTFE: Politetrafluoroetileno.

% Rec: Porcentaje de Recuperación.

RBN: Reglamento Bromatológico Nacional.

RDA: Recommended Dietary Allowance.

RSD: (Relative Standard Deviation) Desviación Estándar Relativa

S/N: (*Signal to Noise ratio*): Relación señal-ruido.

SEIC: Sistema Electrónico de Información de la Industria Cárnica.

SIRA: Sistema de Identificación y Registro Animal.

SNC: Sistema Nervioso Central.

SNIG: Sistema Nacional de Identificación Ganadera.

UDELAR: Universidad de la República

UE: Unión Europea.

UL: Tolerable Upper Intake Level.

UNIT: Instituto Uruguayo de Normas Técnicas.

USDA: (*U.S. Department of Agriculture*) Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.

UV: Ultravioleta.

Resumen

En el presente trabajo se evaluó la influencia del grado de cocción en la retención de los micronutrientes cobre (Cu), hierro (Fe), hierro hemo (Fe-Hemo) y cinc (Zn) en tres cortes de carne vacuna de consumo en Uruguay, diferentes estructuralmente (asado, cuadril y bola de lomo) provenientes de 40 animales del territorio nacional. Se estudió la variación de estos elementos según el corte (evaluando el diferente aporte nutricional) y según el punto de cocción (tomando como medida del grado de avance en el proceso de cocción, la pérdida de masa de la muestra luego del tratamiento térmico respecto a la misma cruda).

Las muestras de carne vacuna (provistas por el Instituto Nacional de Carnes, INAC), se recibieron envasadas al vacío con 36 horas de maduración sanitaria. A cada una de ellas luego de retirarse el tejido óseo y adiposo visible se la dividió en tres porciones, una de las cuales fue analizada cruda y las otras dos fueron sometidas al mismo proceso de cocción (que consistió en un sellado en una plancha a 300°C hasta dorar cada una de las caras de las piezas y se culminó el proceso en horno a 200°C, siendo ambos equipos eléctricos).

Se trabajó en dos puntos (o grados) de cocción en cada muestra, que fueron establecidos evaluando la pérdida de masa respecto a la misma cruda, para lo cual se monitoreó el proceso mediante la utilización de una termocupla de pincho, que se introdujo en el centro de los cortes. Cabe mencionar que durante las etapas del proceso térmico no se agregó ningún aditivo a las porciones de carne analizadas.

El tratamiento de las muestras consistió en una molienda y homogeneización (tanto de las muestras crudas como las cocidas) con un molino de cuchillas, un posterior secado de las mismas hasta peso constante, mediante el uso de una estufa a 105°C entre 15 y 18 horas (AOAC 950.46).

Para el análisis de elementos inorgánicos en matrices complejas como lo es la carne, es necesario realizar un tratamiento previo de la muestra para la extracción simultánea y cuantitativa de los minerales. En esta etapa de mineralización se requiere eliminar la totalidad de la material orgánica, para lo cual se realizó una digestión asistida con microondas, adicionando 10 mL de HNO_3 4,2 mol L^{-1} a 0,5 g de carne (molida y seca) con la siguiente programación: potencia 400-1800 W; rampa de 15 minutos hasta alcanzar los 200°C y mantenimiento a dicha temperatura durante 15 minutos. Una vez finalizada la digestión se realizaron las diluciones adecuadas con agua tipo I (ASTM).

Las determinaciones de los elementos cobre (Cu), hierro (Fe) y cinc (Zn) se realizaron mediante espectrometría de absorción atómica de llama (*Flame Atomic Absorption Spectrometry, FAAS*) para

los primeros cuatro muestreos (n=20) y mediante espectrometría de emisión óptica con plasma inducido por microondas (*MIP-OES*) en las muestras restantes (n=20). Los métodos analíticos fueron validados y resultaron adecuados para el fin definido.

Los niveles de Cu, Fe y Zn encontrados en la carne vacuna cruda uruguaya son concordantes con los reportados a nivel nacional, los cuales informan niveles de Cu en el rango de (0,019 – 0,12) mg / 100 g de carne vacuna cruda, niveles de Zn entre (2,0 -7,27) mg / 100 g, de Fe entre (1,42 - 4,82) mg / 100 g y de Fe Hemo de (1,4 - 3,3) mg / 100 g (todos los valores están expresados en base fresca).

La tendencia observada en las muestras analizadas durante todo el estudio fue de un mayor nivel de oligoelementos en el corte bola de lomo, lo cual le brindaría un mayor contenido nutricional en cuanto a los minerales determinados. El corte cuadril presentó un nivel significativamente menor de Zn respecto a los otros dos cortes, pero a pesar de ello se determinó que este alimento aún luego del proceso de cocción con calor seco es una buena fuente de Cu y posee alto contenido de Fe Hemo, Fe y Zn.

La mayor parte del hierro presente en este alimento está bajo su forma más biodisponible (Fe Hemo), lo que hace fundamental su presencia en la dieta humana para satisfacer las necesidades de los individuos y promover un desarrollo humano saludable. Para la determinación del mismo se optimizó un procedimiento basado en el método empírico de Hornsey (1956) ampliamente referenciado, el cual es recomendado utilizar por la Unión Europea como forma de armonizar criterios. Si bien a nivel nacional e internacional existen trabajos que reportan el contenido de hierro hemo en carne vacuna cruda, muy pocas lo hacen sobre la influencia de la cocción en sus niveles. Hasta el momento a nivel nacional no se han encontrado reportes sobre los porcentajes de retención de hierro hemo en carne vacuna luego del proceso de cocción, por lo cual este trabajo aporta nueva información y actualizada sobre las variaciones del nivel nutricional en las carnes vacunas uruguayas al ser sometidas a este proceso de cocción en particular.

La carne vacuna es una fuente importante de micronutrientes pero se sabe poco acerca de cómo y en qué medida afectan los procesos de cocción su valor nutricional. Si bien el contenido de minerales analizado varió con la cocción utilizada en este trabajo, las pérdidas por lixiviación no fueron significativas hasta una pérdida de peso aproximada de 15% (para el punto poco cocido), a partir del cual este porcentaje aumenta. La evaluación de la influencia del proceso de cocción en el contenido de nutrientes se realizó mediante el cálculo del porcentaje de retención mediante la utilización de la ecuación descrita por Bognár y Piekarski (2000). Estos porcentajes de retención se pueden utilizar para calcular el contenido nutricional de este alimento de forma rápida y sencilla.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.

1.1. Oligoelementos

Para lograr una correcta nutrición, los organismos vivos necesitan adquirir mediante la alimentación, los nutrientes necesarios que no puede sintetizar, en las proporciones adecuadas. Existen elementos esenciales u oligoelementos imprescindibles para la vida humana como el cobre (Cu), hierro (Fe) y cinc (Zn) que integran dichos requerimientos (Hernández, 2004; Ciudad Reynaud, 2014; Alarcón-Corredor, 2009).

Estos minerales se pueden agrupar en macro o microelementos (u oligoelementos) según las cantidades requeridas en la ingesta de nutrientes y en la que se encuentran presentes en los tejidos corporales (Ramírez et al., 2015).

Tabla 1. Macro y microelementos.

Minerales	Requerimientos nutricionales (mg/día)	Proporción en masa corporal (%)	Algunos elementos
Macroelementos	> 100	> 0,1	Ca, P, Na, Mg, K, Cl, S.
Microelementos, oligoelementos o elementos traza	< 100	< 0,1	Fe, Zn, Cu, Mn, Se, I, F, entre otros.

Frecuentemente el consumo de alimentos ricos en micronutrientes suele ser inadecuado, lo que genera deficiencias que a su vez originan diferentes enfermedades (Martíáñez, J. y Herrero, E., 2011; Russell, R. y Suter P., 2019; Ciudad Reynaud, 2014).

Diversos organismos y comités internacionales como FAO (Food and Agriculture Organization), OMS (Organización Mundial de la Salud), FDA (Food and Drug Administration) establecen recomendaciones de ingestas adecuadas diarias de nutrientes para la población con fines prácticos de acuerdo a resultados de diversas investigaciones. Estos valores solamente representan una guía aproximada para calcular las necesidades de cualquier individuo sano, ya que éstas necesidades pueden variar debido a diversos factores (Rubio et al., 2007).

Todo nutriente esencial tiene su propia relación dentro de los organismos, entre su ingesta y la respuesta nutricional obtenida. Una ingesta de nutriente por debajo del requerimiento provoca una

cierta carencia. Al aumentar la ingesta del mismo se logra alcanzar la suplementación óptima y la función normal. Cada individuo tiene su propia capacidad homeostática. Del mismo modo que resulta perjudicial una ingesta insuficiente de nutrientes, el exceso en el consumo por encima de determinados valores límites provoca efectos tóxicos en el organismo (Alarcón-Corredor, 2009; Martiáñez y Herrero, 2011).

Para estimar y/o planificar las ingestas de oligoelementos de la población, se requiere conocer el contenido de los elementos en los alimentos consumidos habitualmente. Estas determinaciones requieren de técnicas analíticas con bajos límites de detección y cuantificación.

Uno de los alimentos más consumidos en nuestro país es la carne vacuna. En la Tabla 2 se presentan los niveles de algunos elementos fundamentales para el desarrollo de la vida saludable en carne vacuna cruda reportados por publicaciones a nivel nacional e internacional.

Tabla 2. Niveles de Cu, Zn, Fe, Fe Hemo en carne vacuna cruda reportados en varias publicaciones.

PAÍS	ELEMENTO (mg / 100 g carne vacuna cruda en base fresca)			
	Zn	Cu	Fe	Fe Hemo
URUGUAY	2,3 - 3,7 (a)	0,02 - 0,11 (a)	1,7 - 4,6 (a)	2,0 - 3,3 (a)
	2,30 - 7,27 (b)	0,019 - 0,109 (b)	1,42 - 4,82 (b)	-
	2,43 - 3,58 (c)	0,02 - 0,12 (c)	3,5 (c)	1,4 - 2,2 (c)
	2,0 - 3,5 (d)	0,07 - 0,11 (d)	3,0 - 4,5 (d)	2,0 - 3,2 (d)
ARGENTINA	3,7 - 5,3 (g)	-	2,0 - 2,8 (a)	-
VENEZUELA	3,21- 3,35 (e)	0,02 - 0,11 (a) 0,11 - 0,15 (e)	1,37 - 1,55 (e)	-
CHILE	1,98 - 5,64 (f)	0,03 - 0,20 (f)	1,02 - 3,42 (f)	-
BRASIL	3,02 - 3,78 (d)	-	1,10 - 1,52 (a)	-
BOLIVIA	4,4 (g)	-	-	-
EEUU	3,4 - 10,0 (d)	0,056 - 0,096 (d)	1,65 (h)	1,4 (h)
	4,0 - 4,7 (b)			
DINAMARCA	4,0 - 4,7 (b)	-	1,6 - 2,4 (b)	-
REINO UNIDO		-		-
AUSTRALIA		-		-
ITALIA	3,94 - 4,75 (a)	0,04 - 0,09 (a)	1,80 - 2,35 (c) 1,82 (j)	1,68 - 1,72 (c)
NORUEGA	3,4 - 4,9 (d)	0,02 - 0,06 (d)	-	-
SUDÁFRICA	-	-	2,04 - 2,45 (i)	1,65 - 1,95 (i)
NUEVA ZELANDA	-	-	1,88 - 2,23 (h)	1,6 - 1,9 (h)
SUIZA	-	-	1,6 - 2,5 (b)	-

(a) (Cabrera y Saadoun, 2014); (b) (Cabrera et al., 2010); (c) (Abdo, A., 2011); (d) (Ramos et al., 2012); (e) (Arenas de Moreno et al., 2000); (f) (Valenzuela et al., 2008); (g) (Programa Cooperativo para el Desarrollo Tecnológico Agroalimentario y Agroindustrial del Cono Sur (PROCISUR), 2015); (h) (Purchas y Busboom, 2005); (i) (Pretorius, 2016); (j) (Lombardi-Boccia et al., 2002).

1.1.1. Cobre (Cu)

A lo largo del siglo XIX se reunió evidencia sobre el papel esencial de los elementos inorgánicos en el buen funcionamiento de los seres vivos. Después del cinc y el hierro, el cobre es el oligoelemento esencial más abundante del cuerpo, importante catalizador en la síntesis de hierro hemo y su absorción (Vilar, 2002; Barceloux, et. al 1999; Zalamea, 2020).

El contenido de cobre en los alimentos es variable dependiendo de múltiples factores, entre los que se pueden mencionar su origen (animal o vegetal), las características del alimento, las condiciones climáticas soportadas, del suelo y el agua, del medio ambiente, uso de fertilizantes, como así también su forma de consumo, elaboración, etc. (O'Donnell, 2001).

Tabla 3. Importancia del Cobre (Cu)

Cobre (Cu)			
Funciones en el organismo	Esencial en procesos fisiológicos y metabólicos como la expresión génica. Involucrado en mecanismos de defensa, cardiovascular, reproductor, respiratorio, entre otros. Se encuentra como cofactor o grupo prostético de numerosas enzimas como la citocromo oxidasa, lisil oxidasa, la superóxido dismutasa. Requerido para el crecimiento corporal, mineralización ósea, maduración de glóbulos rojos y blancos, transporte de hierro, metabolismo del colesterol, contractilidad del miocardio, metabolismo de la glucosa, desarrollo y normal funcionamiento del cerebro. Se requiere para la integridad cardiovascular, elasticidad pulmonar, reproducción de las especies, desarrollo fetal adecuado. Participa en la síntesis de glóbulos rojos, asistiendo en la fijación del hierro en la hemoglobina. Es responsable de la absorción óptima de vitamina C, y se encuentra presente en la mayoría de los anticuerpos. Es necesario en el metabolismo de las proteínas y la formación del tejido conjuntivo, así como en la síntesis de lípidos presentes en el cerebro. (1)(2)		
Metabolismo y Regulación	Contenido corporal promedio en un adulto oscila entre 100 y 150 mg distribuido aproximadamente en un 25% del contenido total de Cu en Cerebro e hígado y un 40% del contenido total de cobre en músculos (1)(3). Se absorbe en el intestino delgado (4)		
Interacción	Fibras, fitatos, alimentos quelantes (5). Pb, As, Cd, Hg (6)		
Enfermedades debidas a déficit o exceso	Enfermedades de Menkes, Wilson, Alzheimer (7) Desmineralización ósea (8) Anemia (aún con niveles normales de hierro) (9) Alteración de presión arterial, trastorno de metabolismo de lípidos (hiperlipemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia) (2)		
Alimentos en los que se encuentra	Alimentos de origen animal: ostras, vísceras hígado y riñones, carne. Frutos secos (3)		
Ingesta Diaria Recomendada (IDR) (mg/día) (11)	Niños menores de 14 años 0,6	Entre 14 hasta más de 70 años 0,9	Embarazadas 1,0
Ingesta Diaria Admisible (IDA) (mg/día) (12)	Niños menores de 14 años 4	Entre 14 hasta más de 70 años 10	Embarazadas 10

(1)(Gil, 2010); (2) (Alarcón-Corredor, 2009; Hernández 2004); (3) Taboada, 2017; (4) Escudero, E. y González, P., 2006; (5) (Spurgeon et al., 2010); (6) (Andrade et al., 2017; Rihel, 2018; Dusek, et al., 2015; Llanos et al., 2002; Scheiber et al., 2014); (7) (Annangi et al., 2016; Scheiber et al., 2014; Edens y Zieve., 2018; Ferri, 2018); (8) Miján de la Torre, 2010); (9)(Wax, 2019; Mason, 2016; Smith, 2018); (10)(Zalamea, 2020 (11) Ingesta Diaria Recomendada (IDR) según el National Institute of Health (NIH) (National Center for Biotechnology Information, 2011) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56068/table/summarytables.t3/?report=objectonly> (12)Ingesta Diaria Admisible (IDA) según el National Institute of Health (NIH) (National Center for Biotechnology Information, 2011) https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545442/table/appJ_tab9/?report=objectonly

1.1.2. Cinc (Zn)

Actualmente se encuentra bien documentado el papel fundamental que desarrolla el cinc en el organismo humano encontrándose en mayor abundancia en determinados tejidos animales (Torres y Bahr, 2004; Rubio et al, 2007)

Tabla 4. Importancia del Cinc (Zn)

Cinc (Zn)			
Funciones en el organismo	Vinculado a procesos de crecimiento, desarrollo, funciones inmunes, enzimáticos de los procesos de división y multiplicación celular y con los sistemas metabólico-hormonales de regulación. Forma parte de enzimas como ARN polimerasa, anhidrasa carbónica, Cu-Zn superóxido dismutasa, enzima convertidora angiotensina. (1)(2) Interviene en la respiración celular, reproducción de ADN y ARN, mantenimiento de la integridad de la membrana celular, eliminación de radicales libres. Debido a que no cambia su estado electroquímico como el Fe y el Cu, no genera daño al organismo por oxidación. Es necesario para la integridad de las proteínas íntimamente involucradas con el ADN (histonas), es un componente de las polimerasas del ADN y el ARN además de otras enzimas citosólicas involucradas en la síntesis de proteínas. Es fundamental para el crecimiento celular. (3) Cumple funciones de neurotransmisor además de ser esencial para la maduración y función del Sistema Nervioso Central. Está comprometido con el metabolismo de las hormonas tiroideas, con la función de los receptores y transporte de hormonas que influyen al SNC, además de ser un factor de crecimiento. Tiene un importante papel en muchos procesos biológicos como la cicatrización de heridas, inflamación, aterosclerosis y cáncer. Influye sobre el hipotálamo afectando las concentraciones de varios neurotransmisores, el metabolismo de los carbohidratos, secreción de la hormona del crecimiento y esteroides sexuales. Esencial para la fertilidad masculina, mantener la estructura y función normal de los espermatozoides. Tiene propiedades antivirales, antibacterianas, antirradiación, anticancerígeno. Involucrado en metabolismo de la piel, cicatrización de heridas, síntesis de colágeno, mantenimiento de funciones de la retina, metabolismo de la glucosa y de lípidos. (4)		
Metabolismo y Regulación	Mayor proporción en músculos (60%) y huesos (30%) (1) La concentración en algunos tejidos (hueso, testículo, pelo, sangre) refleja la ingesta del mismo. En músculo, encéfalo, pulmones, corazón no varían en gran medida con la ingesta. Se absorbe en el intestino. Se transporta y se concentra en el hígado. Se excreta fundamentalmente en las heces pero también en la descamación epitelial (5)		
Interacción	Fibra, fitatos, oxalatos lo quelan y disminuyen su absorción. Ca, Cu y Cd compiten y pueden reemplazarlo dificultando su absorción. Favorecen su absorción: glucosa, lactosa y algunas proteínas (3)(5)		
Enfermedades debidas a déficit o exceso	Retraso en el crecimiento, en maduración ósea, desarrollo gonadal, agudeza gustativa. Trastornos en cicatrización, atrofia. Anormalidades congénitas en niños Anemia, fatiga, Raquitismo, deterioro del rendimiento cognitivo. Cáncer, daño al ADN, inflamaciones y alteración del sistema inmunológico. Desórdenes del pensamiento, del humor, capacidad de aprendizaje y comportamiento. Trastornos de la visión, gusto y olfato (3)(4)(5)(6)		
Alimentos en los que se encuentra	Fuentes: mariscos (ostras y crustáceos), carnes rojas, huevos, cereales integrales, leguminosas. Vegetales no presentan altos contenidos (3)(5)(6)		
Ingesta Diaria Recomendada (IDR) (mg/día) (7)	Niños menores de 14 años 7	Entre 14 hasta más de 70 años 11	Embarazadas 11
Ingesta Diaria Admisible (IDA) (mg/día) (8)	Niños menores de 14 años 18	Entre 14 hasta más de 70 años 40	Embarazadas 40

(1)(Gil, 2010); (2) Cabrera, M., Saadoun, A., 2014); (3) (Rubio et al., 2007); (4)(Alarcón-Corredor, 2009); (5) (Torres y Bahr, 2004; (López et. al, 2010); (6)(Hernández, 2004; Taboada, 2017; Miján de la Torre, 2010; Cabrera, M., Saadoun, A., 2014; Stefanidou et. al, 2006 (7) Ingesta Diaria Recomendada (IDR) según el National Institute of Health (NIH) (National Center for Biotechnology Information, 2011) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56068/table/summarytables.t3/?report=objectonly>

(8)Ingesta Diaria Admisible (IDA) según el National Institute of Health (NIH) (National Center for Biotechnology Information, 2011) https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545442/table/app1_tab9/?report=objectonly

1.1.3. Hierro (Fe)

El hierro a pesar de ser un mineral muy abundante y esencial para los organismos vivos, su deficiencia es uno de los trastornos más comunes en todo el mundo.

El hierro tiene dos estados de oxidación biológicamente relevantes: Fe^{2+} y Fe^{3+} , que dan lugar a dos especies que son el hierro hemínico (Fe Hemo) y no hemínico (Fe No Hemo). El hierro hemo se absorbe en mayor medida (20-30%) que el no hemo (1-20%). La principal fuente de hierro hemo en la dieta es la carne. (Alarcón-Corredor, 2009; Forrellat, 2016; Finberg, 2011).

Tabla 5. Importancia del Hierro (Fe)

Fe			
Funciones en el organismo	Forman parte de enzimas y otras proteínas que intervienen en el metabolismo, de componentes orgánicos como hemoglobina, mioglobina y citocromos (Fe Hemo). Importancia en el desarrollo neurocognitivo, crecimiento, funcionamiento del sistema inmunológico, reproducción, respiración celular. Interviene en la síntesis de ADN, suministro de oxígeno, metabolismo celular. Está involucrado en el metabolismo oxidativo, el intercambio de gases a nivel tisular y celular a través de la oxigenación de la hemoglobina en los glóbulos rojos y la mioglobina en el músculo esquelético. Se relaciona con la función del sistema inmune, mecanismos de defensa del organismo, maduración normal de los linfocitos, funciones neuronales y musculares. Es cofactor para las enzimas tirosina hidroxilasa, triptófano hidroxilasa, xantina oxidasa y ribonucleótido reductasa como también para enzimas hemínicas (catalasas, peroxidases, citocromo oxidasa) y no hemínicas (aldolasa, triptófano oxigenasa). (1)		
Metabolismo y Regulación	El organismo humano posee entre 35 y 45 mg de Fe por kg de peso aproximadamente. Mayoritariamente se encuentra como hierro hemoglobínico, eritrocitos y médula ósea. El exceso se deposita en el bazo, hígado y médula ósea, intracelularmente como ferritina y hemosiderina. Mecanismos de regulación sistemática de la homeostasis del hierro, minimiza las pérdidas y lo reutiliza dentro del organismo (2)		
Interacción	Disminuye su absorción: fitatos (cereales), taninos (café, té), oxalatos (vegetales), metales (Zn, Mn que compiten con él). Estimulan su absorción: vitamina C (ácido ascórbico), otros ácidos orgánicos (ácido málico, tartárico, láctico), carnes (vacuna, aves de corral y pescado) (3)		
Enfermedades debidas a déficit o exceso	Su deficiencia en el cuerpo humano provoca fatiga, disminución de la productividad y desarrollo cognitivo desbalanceado, Anemia ferropénica (1)(3)(4)		
Alimentos en los que se encuentra	Carnes rojas, aviar, pescados contienen tanto hierro no hemo como hierro hemo, mientras que el resto de los alimentos se puede considerar que todo el hierro que contienen está en forma no hemo. (5)		
Ingesta Diaria Recomendada (IDR) (mg/día) (6)	Niños menores de 14 años 9	Entre 14 hasta más de 70 años 9	Embarazadas 27
Ingesta Diaria Admisible (IDA) (mg/día) (7)	Niños menores de 14 años 40	Entre 14 hasta más de 70 años 45	Embarazadas 45

(1) Hernández, 2004; Gozzelino, R., Arosio, P. 2016; Higdon, 2001; Alarcón-Corredor, 2009; Biesalski, 2005

(2) Forrellat et al., 2016; Vilaplana, M., 2001; Higdon, 2001

(3) (Hurrell y Egli., 2010; Food and Nutrition Board/Institute of Medicine, 2001; Agte et al, 2005; Gaitán et al., 2006; Gaitán et al., 2006; Aggett, 2012; Teucher et al, 2004; Johnston 2012; West et al., 2008

(4) González et al., 2016

(5) Urdampilleta et al., 2010)

(6) Ingesta Diaria Recomendada (IDR) según el National Institute of Health (NIH) (National Center for Biotechnology Information, 2011) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56068/table/summarytables.t3/?report=objectonly>

(7) Ingesta Diaria Admisible (IDA) según el National Institute of Health (NIH) (National Center for Biotechnology Information, 2011) https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545442/table/appJ_tab9/?report=objectonly

1.1.3.a. Especiación. Fe-Hemo

El hierro se encuentra presente en los alimentos en dos formas químicas diferentes (hemo y no hemo), de las cuales la fracción de hierro total con mayor biodisponibilidad corresponde al hierro hemo (Pretorius et al., 2016)

El grupo hemo es un complejo que está compuesto por un grupo prostético de hierro ferroso (Fe^{+2}) y protoporfirina, que cumple importantes funciones en los procesos biológicos, entre las que se destacan el transporte de oxígeno (a través de la hemoglobina), el almacenamiento (mediante la mioglobina), la transferencia de electrones (por medio de los citocromos respiratorios). Es un componente estructural de hemoproteínas, esencial para el normal funcionamiento de las células aeróbicas, además de controlar la síntesis de proteínas y cumplir funciones en la diferenciación celular (Fujiwara y Harigae, 2015).

Los principales hemopigmentos de la carne son la mioglobina y la hemoglobina, aunque también influyen otros compuestos como los citocromos y las flavinas (Badui, 2006).

Además de ser mejor absorbido, el hierro hemo, contribuye a la asimilación de hasta un 40% del hierro total ingerido. La ingesta de carne favorece la absorción de hierro hemo y de hierro inorgánico. Esto podría deberse a la contribución de ciertos aminoácidos y péptidos que se liberan en el proceso de digestión, manteniéndose solubles y disponibles para su absorción (Forrellat, 2016; Ponka, 1999; Andrade et al., 2017; Kalpalathika et al., 1991; West et al., 2008; Saunders et. al, 2013).

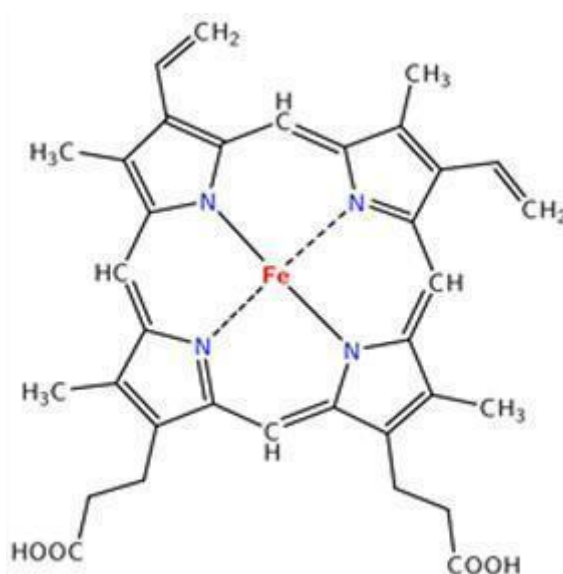


Figura 1. Molécula de Hierro Hemo

1.2. Carne vacuna

Según el Reglamento Bromatológico Nacional (en adelante RBN) Decreto 315/94 y su modificación Decreto 210/18 de fecha 9 de julio de 2018 en su capítulo 13, sección 1, artículo 13.1.1, la carne se define como la *“parte muscular comestible de animales faenados y declarados aptos para el consumo humano por la autoridad oficial competente, constituida por los tejidos blandos que rodean el esqueleto, incluyendo su cobertura grasa, tendones, vasos, nervios, aponeurosis y todos aquellos tejidos no separados durante la operación de faena. Además se considera carne el diafragma. No se incluye en esta categoría el corazón, el esófago, la lengua y los músculos del aparato hioideo”* (RBN, 2018).

La composición química variable y compleja de este producto heterogéneo depende de diversos factores. Algunos de ellos son intrínsecos del animal del cual provienen (edad de sacrificio, raza), otros extrínsecos (condiciones climáticas, tipo de alimentación, región de la cual proviene), otros de las condiciones de manipulación, procesamiento y almacenamiento de la carne. También podemos incluir dentro de dichos factores el corte carnicero del cual se trate.

Los valores medios reportados generalmente se sitúan entre un 65 y 80% de agua, 16 a 22% de proteína, 1 a 15% de grasas, 1% de cenizas. Este valioso alimento presenta alto contenido de minerales de elevada biodisponibilidad (hierro y cinc), vitaminas (B6, B12, retinol y tiamina), hidratos de carbono, aminoácidos esenciales de alta digestibilidad entre otros componentes. Se ha reportado que su contenido de cobre puede variar según la calidad del pasto en la alimentación recibida (Cabrera, M. y Saadoun, A., 2014; Horcada y Polvillo, 2010; Hintze et al., 2002; Cabrera et al., 2010, Ramos et al, 2012; Realini et al., 2004; Terevinto, 2010; Purchas et al., 2003).

El consumo de carne bovina es indispensable en una dieta saludable, por su contenido, concentración y alta biodisponibilidad de nutrientes esenciales (Saadoun y Cabrera, 2012; Williamson et al., 2005; McNeill y Van Elswyk, 2012).

En Uruguay, el Ministerio de Salud Pública (MSP) elaboró un Manual de la Promoción de Prácticas Saludables de Alimentación conocidas como las GABAS (Guía Alimentaria Basada en Alimentos), en lo que dio en llamar el Programa Nacional de Nutrición e incluyen varias medidas a tener en cuenta para una dieta saludable. Este manual, dirigido a la población, destaca que si bien los nutrientes aportados por las carnes rojas son insustituibles, es necesario para su consumo saludable regular la ingesta de lípidos, realizando recomendaciones para su elaboración apropiada (separar la grasa de cobertura, elegir cortes carniceros magros, asar sin calcinar el alimento, disminuir la fritura, etc) (MSP, 2016).

Según el último informe del Instituto Nacional de Carnes (INAC, organismo dedicado al monitoreo de la cadena cárnica, persona pública no Estatal), Uruguay es uno de los países que más carne consume en el mundo, registrándose en el 2019, 87 kg/hab/año entre especies bovina, ovina, aviar y porcina, destacándose en particular la carne bovina con 47,9 kg/hab/año. De la carne total consumida por los uruguayos, un 55% corresponde a la vacuna mostrando un predominio frente a las otras que representan un 21,3% la aviar, 20,7% la porcina y 3% la ovina (INAC, 2019; Lanfranco y Rava, 2014).

De acuerdo a un estudio realizado por FACTUM durante el mes de junio de 2019 solicitado por el INAC sobre la percepción de los consumidores acerca de la carne vacuna, relevando sus hábitos y preferencias además de las asociaciones del producto con la nutrición y salud humana, el 99% de los hogares en el Uruguay consumen carne vacuna. En dicho estudio se informó que la carne picada es el producto vacuno con mayor penetración mensual (74% de los hogares) y que las características de la carne que más inciden en la compra por parte de los consumidores primeramente es la terneza, el precio en segundo lugar y luego el color (FACTUM, 2019).

Brindar un producto con atributos de calidad que contemplen aspectos organolépticos, de adecuado valor nutricional, de inocuidad y bienestar animal, da la posibilidad de diferenciación y agregado de valor a nuestras carnes, donde su promoción requiere del aporte científico para dar fundamento evidenciable a las mismas.

En los últimos años se ha aumentado la información generada sobre la composición mineral de la carne (Cabrera et al., 2010; Farfan y Samman, 2003; Giuffrida-Mendoza, Arenas Delaware Moreno, Uzcátegui-Bracho, Rincón-Villalobos y Huerta-Leidenz, 2007; Huerta-Leidenz, Arenas de Moreno, Moron-Fuenmayor y Uzcátegui-Bracho, 2003; Ramos, Cabrera y Saadoun, 2012).

Generar información relacionada a los oligoelementos que componen la carne es importante para determinar su valor nutricional y capacidad para mantener y mejorar la salud humana.

1.2.1 Importancia y características de la carne vacuna

La carne constituye un alimento de alto valor biológico, excelente fuente de micronutrientes que a menudo son limitantes en la dieta, por lo que su consumo es fundamental para responder a los requerimientos cuali cuantitativos de los nutrientes de impacto en la salud (Alfaia et al., 2013; Saadoun y Cabrera, 2012; Williamson et al., 2005; McNeill y Van Elswyk, 2012).

El contenido aproximado de Zn es de 6 mg cada 100 gramos de carne, lo cual representa el doble del presentado por la carne de ave y el cuádruple del brindado por el pescado.

La cantidad de hierro aportada por la carne de vaca (3 mg de Fe cada 100 gramos de carne aproximadamente) es mayor que la de las carnes blancas, siendo el doble que la de pollo y el triple que el pescado. Posee además una gran ventaja nutritiva, ya que es absorbido con mayor eficiencia que el hierro proveniente de los vegetales (McGee, 2017).

1.2.1.a. Calidad y transformación del músculo en carne

La calidad de la carne refiere a un conjunto de atributos relacionados con la presentación, composición, pureza, inocuidad y valor nutritivo que lo hace apetecible al consumidor. Tiene un importante componente de subjetividad ya que puede variar según los criterios de cada consumidor.

Determinadas propiedades organolépticas de la carne, como son el sabor, jugosidad y textura; están influidas por el contenido de grasa de la misma. Por lo que se lo ha asociado como un alimento no saludable preocupando a consumidores y profesionales de la alimentación respecto a su contenido en ácidos grasos y colesterol. Existe evidencia científica que la grasa de los rumiantes contienen ácidos grasos esenciales como el linoleico, linolénico, con beneficiosos efectos para la salud (Horcada y Polvillo, 2010).

La conversión (o transformación) del músculo en carne es un proceso integrado por varias etapas. En una primera instancia, luego del sacrificio del animal, se produce el corte de circulación sanguínea estableciéndose un periodo de *pre rigor mortis*, en el cual se interrumpe la llegada de oxígeno y nutrientes a las células dándose lugar a una acidificación (descenso del pH) del tejido muscular debida a la producción de ácido láctico a partir del glucógeno. A continuación se sucede la etapa de *rigor mortis*, en la cual el músculo alcanza su grado máximo de dureza, el pH desciende hasta 5, 4-5, 6 (cercano al punto isoeléctrico de las proteínas). Se reduce la capacidad de retención de agua (CRA) tisular y se desnaturalizan las proteínas. Si la carne se cocinara en este estado sería muy dura, por lo cual es necesario esperar un tiempo denominado maduración, para que las enzimas actúen sobre las fibras musculares debilitando la estructura y textura de la carne ablandándola (Mc Gee, 2017; Rocanlés, 2001).

1.2.1.b. Pigmentos de la carne vacuna, fuente de hierro.

Debido a la capacidad de los alimentos de reflejar, absorber o emitir diferentes cantidades de energía a determinadas longitudes de onda que estimulan la retina del ojo, presentan diferentes colores.

El color que presenta la carne influye en cierta medida en la aceptabilidad y la calidad de la misma. Según el último estudio realizado en nuestro país por FACTUM mencionado anteriormente, el color es uno de los factores que incide al momento de la compra (INAC, 2019).

El principal componente cromóforo de la carne, responsable de la absorción de la luz y del color, es una porfirina denominada hemo. Dentro del anillo de porfirina, en la posición central, existe un átomo de hierro formando un complejo con cuatro átomos de nitrógeno tetrapirrólicos.

Los pigmentos hemo se encuentran presentes principalmente en la mioglobina del músculo, luego le siguen los grupos hemo contenidos en la hemoglobina (a pesar de que ésta se elimina casi en su totalidad al desangrar al animal luego del sacrificio), citocromos, flavinas vitamina B₁₂. La cantidad de mioglobina varía entre los diferentes músculos de un mismo animal (los diferentes cortes de carne), entre las especies (ganado bovino, ovino, caprino, aves de corral) y características particulares (edad, raza, sexo, actividad física) (Fennema, 2010; Yang et al., 2002; Mancini y Hunt, 2005; Dunne et al., 2008; Badui, 2006).

Dependiendo del entorno químico en el que se encuentre (presencia o ausencia de oxígeno, acidez, temperatura, concentración de sal) y por el estado de oxidación del hierro, la mioglobina puede cambiar su estructura. Cuando el hierro se une a una molécula de oxígeno, se tiene la oximioglobina de color rojo. Si el oxígeno se desprende, se obtiene la desoximioglobina de color morado (comúnmente se encuentra en el interior del músculo). Si el Fe²⁺ se oxida a Fe³⁺ se puede transformar en metamioglobina, asociada a color pardo o carnes que se han cortado desde un largo tiempo, principalmente se observa este cambio de coloración en carnes picadas (Tabla 6). Dependiendo de las proporciones relativas de estos compuestos, es el color en la carne que se obtiene (Fennema, 2010; McGee, 2017; Swatland, 2003; Suman y Joseph, 2014; Beriain et al., 2009; Jacob, 2014).

Tabla 6. Pigmentos en carne fresca y cocida.

Pigmento	Mecanismo de formación	Estado del hierro	Color de la carne
Desoximioglobina	Reducción de metamioglobina; desoxigenación de oximioglobina	Fe ²⁺	Rojo púrpura
Oximioglobina	Oxigenación de mioglobina	Fe ²⁺	Rojo brillante
Metamioglobina	Oxidación de mioglobina	Fe ³⁺	Pardo
Globina miohemocromógeno	Efecto del calor, agentes desnaturizantes de la mioglobina, oximioglobina	Fe ²⁺	Rojo mate
Globina miohemocromógeno	Efecto del calor, agentes desnaturizantes de la mioglobina, oximioglobina, metamioglobina	Fe ³⁺	Marrón (a veces grisácea)

(Fennema, 2010)

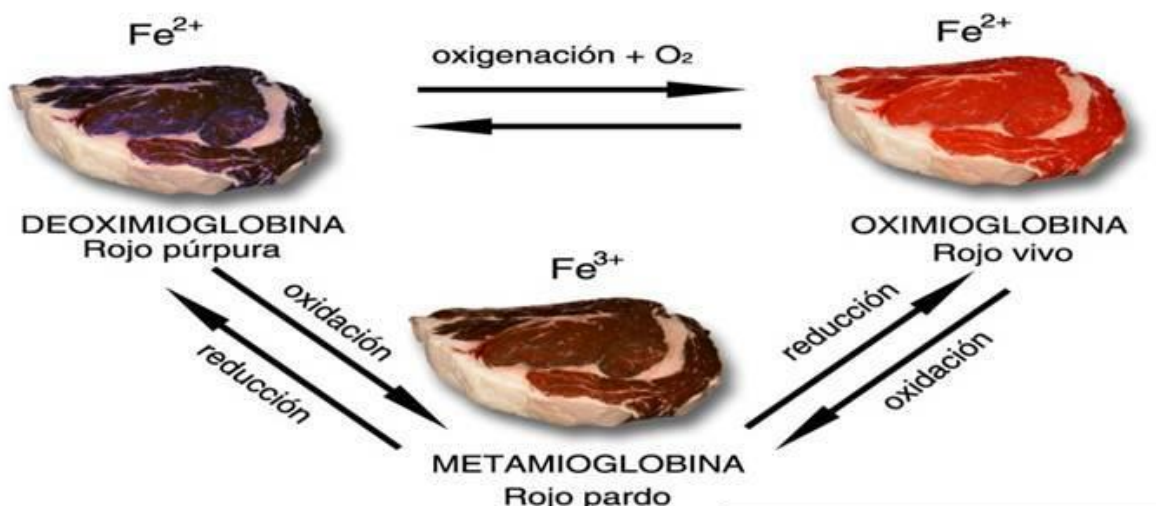


Figura 2. Procesos de transformación de la mioglobina. (Fuente: Faustman, 1990).

El contenido de pigmentos hemínicos (concentración de mioglobina y su forma química) es determinante en el color de la carne (Beriaín et al., 2009). El tiempo de almacenamiento, la temperatura, el valor de pH tienen un gran efecto sobre la estabilidad del color (Jacob, 2014).

1.2.2 Tipos de cortes, justificación de la elección

El músculo bovino está compuesto mayormente por fibras musculares de origen proteico (actina, miosina, colágeno, elastina), formando estructuras ordenadas de fascículos, fibras, fibrillas y filamentos rodeadas por tejido conjuntivo denominado endomisio. Este tejido conecta las células individuales y tejidos, rodea cada fibra muscular, sujeta las fibras en haces y se une para formar tendones que unen los músculos a los huesos. Cuanto más fuerza ejerce un músculo, necesita mayor cantidad de dicho tejido. La elastina es una de las moléculas que componen este tejido conectivo que posee la capacidad de estirarse y es especialmente resistente, sus enlaces transversales no se pueden romper con el calor al cocinar.

Las estrías en los músculos esqueléticos están separadas a una distancia que corresponde a la longitud del sarcómero, lo cual influye en la dureza de la carne. Entre las fibras y el tejido conjuntivo se encuentran grupos de células grasas, cuya disposición y proporciones relativas influyen en gran medida en las cualidades de la carne como textura, color, sabor (Rehfeldt et al., 2004; Badui, 2006; McGee, 2017).

El colágeno es la proteína sarcoplasmática más abundante y se encuentra principalmente en la piel, ligamentos, tendones y huesos. Esta glucoproteína además de contener pequeñas cantidades de galactosa y glucosa, está compuesta por cantidades variables de glicina, prolina, alanina e hidroxiprolina que determinan las características de gelatinización que tenga el colágeno. Es deficiente

en aminoácidos indispensables como lisina y triptofano. Cuando un animal es joven tiene una gran cantidad de colágeno. A medida que crece, sus músculos se ejercitan, este contenido disminuye aunque los filamentos del músculo quedan más entrelazados.

En la terneza de la carne influyen diferentes factores físicos y bioquímicos de las proteínas miofibrilares (del tejido muscular) y colágeno (del tejido conectivo).

Las características de un corte de carne, dependen de la parte del animal del cual proceda, de su edad de sacrificio, de su actividad, entre otros factores. Los cortes procedentes de músculos con poco tejido conjuntivo, que no estén sometidos a mucha actividad serán más tiernos que los provenientes de músculos más activos. Los músculos del lomo de la vaca tienen menos tejido conjuntivo que los de las patas. Las partes del animal que soportan mayor actividad para sostenerlo, tienen mayor proporción del tejido conjuntivo, por lo que los cortes provenientes de ellos son duros y la mejor forma de cocinarlos es aquella en la que se requiere mucho tiempo para disolver el colágeno del tejido conjuntivo (Noguera et al., 2018; Badui, 2006; McGee, 2017).

En 2010, INAC realizó un contraste entre las frecuencias relativas promedio de las preferencias de consumo de carne en la población uruguaya, del cual se desprende que la carne picada ocupa el primer lugar con un 90%. El corte asado ocupa la segunda posición en la canasta país presentando una alta frecuencia relativa en todos los departamentos (80%). Entre los cortes traseros que aparecen tanto en la canasta país como en las canastas por zonas, se encuentra el cuadril y bola de lomo (INAC, 2010).

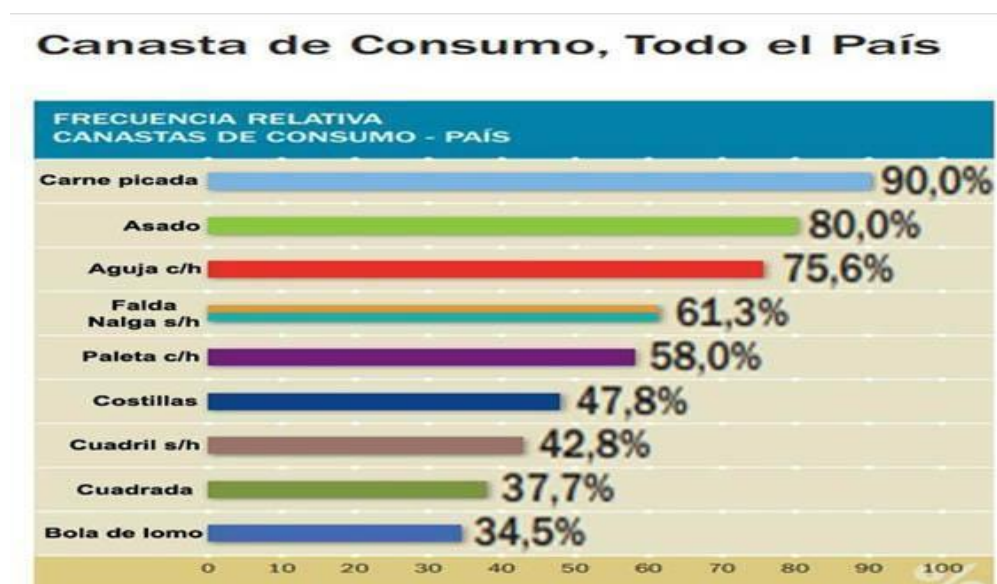


Figura 3. Frecuencia relativa de consumo de carne en la canasta de Uruguay. (Fuente: INAC)
https://www.inac.uy/innovaportal/file/7365/1/conociendo_las_preferencias_de_consumo.pdf

Según la actualización de 2018 del Reglamento Bromatológico Nacional en su capítulo 13 carnes y derivados, sección 1 carnes y subproductos, define en su artículo 13.1.12 la carne picada como “la carne dividida finamente por procedimientos mecánicos, apta para consumo humano, elaborada en establecimientos habilitados por la autoridad oficial competente, enfriada y/o congelada, obtenida a partir de cortes y recortes de carne derivados del desosado, con un máximo de 20 g de grasa en 100 g del producto final, sin tendones, grandes vasos, aponeurosis ni ningún ingrediente añadido”. Se define también el corte de carne en el artículo 13.1.6 del mismo como “la parte de la carcasa o canal con límites previamente especificados y de fácil identificación anatómica. Puede ser con o sin hueso (desosada)” (RBN, 2018). De lo anterior se desprende, que si bien la carne picada es el producto cárnico que encabeza la lista de los productos cárnicos con la mayor frecuencia de consumo en la canasta país, el corte de mayor consumo es el asado y debido a esto fue uno de los cortes seleccionados para analizar en el presente trabajo.

Se analizaron tres cortes de carne vacuna diferentes estructuralmente. El asado, correspondiente a la parrilla costal, que se consume habitualmente en tiras, es un corte delantero con hueso que posee grasa intramuscular y superficial. Los otros dos cortes traseros sin hueso seleccionados (cuadril y bola de lomo) figuran tanto en la canasta país como en las realizadas por zonas en cuanto a consumo (INAC, 2010).

El cuerpo de un animal después de ser faenado se denomina canal. Mediante un corte longitudinal a lo largo de la columna vertebral, ésta se divide en dos partes denominadas media canal. Los cuartos delanteros y traseros son los cortes con hueso que resultan de seccionar las medias canales mediante un corte perpendicular al eje de la columna vertebral. Habitualmente el corte de separación se realiza a nivel del décimo espacio intercostal, quedando 10 costillas en el delantero y 3 en el trasero. Los cortes del cuarto delantero son los que surgen de desosar la porción delantera de la res, entre los que se encuentra el asado. El corte pistola es el correspondiente al cuarto trasero sin asado y sin vacío. Representa más del 40% de la media canal y más del 80% del cuarto trasero. Entre los cortes que surgen del pistola se encuentran cuadril y bola de lomo (RBN, 2018).

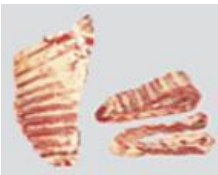
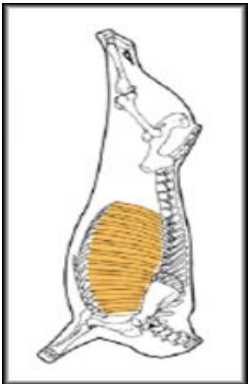
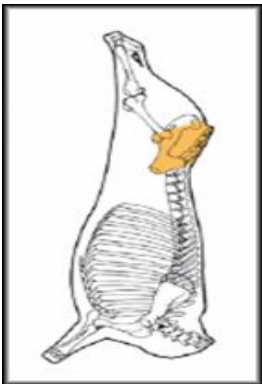
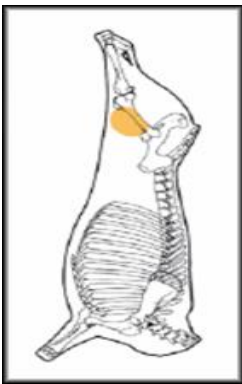
El cuarto trasero de la canal es una región anatómica de donde provienen los cortes de mayor rendimiento muscular y valor comercial. En cambio, del cuarto delantero provienen los cortes más económicos, de masas musculares menos voluminosas y mayor proporción de grasa y/o hueso.

El cuadril es un corte de primera calidad sin hueso que corresponde a la región anatómica de la pelvis. Está compuesto por los músculos glúteo superficial, medio y profundo. Está limitado por delante y arriba por los bifes angostos y la palomita, por delante y debajo con el vacío, por debajo y por fuera

con la cuadrada, por debajo y por dentro con la nalga y en la parte posterior con el peceto. La forma más usual de cocción es a la plancha y a la criolla.

El corte Bola de lomo es una pulpa circular que cubre el fémur del lado anterior e involucra los músculos vasto medio, lateral (externo) y medial (interno) y el recto femoral. Limita con el vacío y la palomita en la parte anterior. Con el fémur y los cortes cuadrada y nalga en la parte posterior, por encima se encuentra el cuadril y por debajo el garrón u osobuco. Es una carne tierna (MA, 2016).

Tabla 7. Descripción de cortes (Fuente: Manual de carnes del Instituto Nacional de Carnes, INAC).

ASADO	CUADRIL	BOLA DE LOMO
		
		
*Corte delantero *Corresponde al centro de la parrilla costal *Es carne con hueso cortada en anchos de tiras	*Corte de primera calidad, sin hueso (trasero) *Ubicado en la parte posterior correspondiente al Bíceps Femoral *Carne magra y formada por grandes masas musculares	*Corte de primera calidad, sin hueso (trasero) *Ubicado en la cara anterior de la región del muslo. *Pulpa circular formada por varios músculos. Se utilizó el <i>Vastus Intermedius</i>

1.2.3 Formas y Puntos de cocción. Importancia de los tratamientos térmicos.

Los estudios sobre el valor nutricional de un alimento deben evaluar la concentración de los nutrientes en la forma en que éstos son consumidos. La carne vacuna usualmente se consume luego de ser sometida a un proceso de cocción. Dicho proceso es necesario para garantizar la seguridad alimentaria, además de satisfacer sensorialmente al consumidor aumentando la palatabilidad y la digestibilidad (Alfaia et al., 2013; Bognár, 1998; Tornberg, 2005).

Goran, Tudoreanu, Rotaru y Crivineanu (2016) informaron que las propiedades físicas, químicas y sensoriales cambian durante la cocción, lo que resulta en pérdida de peso, modificaciones de la capacidad de retención de agua (CRA), cambios de textura debido a la desnaturalización de proteínas y grasas, pérdida de agua, cambio de color y liberación de aroma.

Las condiciones en las cuales se realizan los tratamientos térmicos, sobre todo en los factores tiempo y temperatura, influyen en las propiedades y de manera particular sobre el alimento. Pueden mejorar el valor nutricional de la carne, haciendo que aumente la bioaccesibilidad de los nutrientes o que se generen pérdidas de éstos por procesos de lixiviación (Combes et al., 2003; Lombardi-Boccia, et al., 2005; Lopes, et al., 2015; Goran, et al., 2016).

Existen dos estrategias generales de cocción por transferencia de calor que incluyen cocinar con calor seco o calor húmedo. Las cocciones en seco utilizan aire caliente para conducir el calor y los alimentos se cuecen en su propio jugo. Tales métodos de cocción incluyen horneado, asado y asado a la parrilla, métodos de cocción tradicionales que causan cambios inevitables en la cantidad de nutrientes disponibles (Alfaia, et al., 2013; Campo, et al., 2013; Domínguez, et al., 2015).

De acuerdo al contenido del tejido conjuntivo y colágeno de los cortes, éstos pueden clasificarse de acuerdo a la cocción más adecuada (calor seco o cocción rápida; calor húmedo o cocción lenta que incluyen vapor o inmersión con o sin envase al vacío) (INAC, 2006).

Durante el proceso de cocción se producen dos cambios opuestos: las fibras musculares se hacen más duras por coagulación y el tejido conectivo se hace más blando por conversión del colágeno en gelatina. El grado en que se endurecen las fibras y se ablanda el colágeno está influido por el tiempo y la temperatura de cocción. El tiempo es un factor más determinante en el caso del colágeno, mientras que lo es la temperatura para las fibras.

Para músculos con bajo contenido de tejido conectivo, se utilizan métodos de cocción con calor seco y tiempos cortos, de forma de minimizar el efecto endurecedor sobre las fibras musculares (Resurrección, 2004; Acevedo, 2012; Obuz et al., 2003; Dransfield, 1977; Lepetit, 1994; Bejerholm Aaslyng, 2003).

Si bien la cocción de la carne vacuna es necesaria, las condiciones más extremas pueden provocar la formación de sustancias tóxicas, por lo que es necesario llegar a un compromiso para minimizar las pérdidas de valor nutricional y presencia de sustancias tóxicas logrando conservar adecuadamente el alimento y obtener las características sensoriales deseadas. Existen diferentes grados o puntos de cocción: Bleu, poco hecho, a punto, pasado, hecho y muy hecho (Tabla 8). Si bien el punto de cocción adecuado de la carne depende del consumidor, diversas normativas de organismos reguladores de

alimentación (United States Department of Agriculture (USDA), Food and Drug Administration (FDA)) determinan que para evitar algunas enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) debida a la presencia de patógenos bacteriológicos en carnes rojas crudas, las mismas no deben consumirse si el centro del producto no alcanza una temperatura mínima de 62,8°C. Esto se denomina como punto crítico en los controles alimenticios (USDA, 2013; FDA, 2017; Badui, 2006).

Tabla 8. Puntos de cocción de carne bovina

Grado de cocción	Características
 AZUL / BLEU / A LA INGLESA	*Temperatura en el centro de la pieza: 45 (°C) *Sellada por fuera y completamente roja por dentro. *Suave al tacto *Las enzimas que debilitan las fibras están activas. *El colágeno en el tejido conjuntivo se encuentra intacto. *Puede ser peligroso consumir carne de res mínimamente cocida.
 MUY POCO HECHO	*Temperatura en el centro de la pieza: 50 (°C) *Sellada por fuera y con un 75% de color rojo en el interior. *Se vuelve más firme y opaca. *La miosina comienza a desnaturalizarse y coagular. *Se acelera la pérdida de agua ligada a proteínas y se acumula en las células *Puede ser peligroso consumir carne de res mínimamente cocida.
 POCO HECHO	*Temperatura en el centro de la pieza: 55 (°C) *Sellada por fuera y con un 50% de color rojo en el interior. *Suelta jugo al cortarla. *Se coagula la miosina. *Las vainas de colágeno comienzan a debilitarse *Puede ser peligroso consumir carne de res mínimamente cocida.
 MEDIO HECHO (USDA muy poco hecha)	*Temperatura en el centro de la pieza: 60 (°C) *Sellada por fuera y muestra un color rosáceo por dentro. *Reduce su volumen, pierde elasticidad, exuda jugo rosa. *Otras proteínas de las fibras se desnaturalizan y coagulan. *El colágeno del tejido conjuntivo se reduce, presionando las células. *Agua ligada a proteínas sale de las células por la presión del colágeno *Comienza a desnaturalizarse el pigmento mioglobina *Puede ser peligroso consumir carne de res mínimamente cocida.
 HECHO (USDA poco hecho)	*Temperatura en el centro de la pieza: 65 (°C) *De color marrón por fuera, escaso color rosa en el centro, bordeado de un ligero color marrón en el interior. *La pieza continúa reduciendo su tamaño. *Poca elasticidad *Menos jugo libre gris pardo. *El grado mínimo de cocción recomendado por USDA es 145°F (62,8°C).
 MUY HECHO / BIEN COCIDO (USDA muy hecho)	*Temperatura en el centro de la pieza: mayor de 70 (°C) *De color marrón grisáceo por fuera, 100% color marrón en el interior. *Se disuelve el colágeno. *Pigmento mioglobina desnaturalizado y coagulado. *Rígida, seca

Existen diferentes formas de transferencia de calor involucradas en la cocción. Para cocinar los alimentos es necesario transferir energía desde una fuente de calor a los alimentos. Esta transferencia

puede darse mediante conducción, convección y/o radiación. Los diversos métodos de cocina (hervir, asar, hornear, freír, etc) utilizan diferentes materiales y medios a través de los que se transfiere calor.

La conducción es un método directo mediante el cual se transfiere energía térmica entre dos superficies en contacto. En el alimento la transferencia de calor se da desde el exterior, mediante una superficie a alta temperatura (sartén, plancha) hacia el centro de la pieza sólida de carne. Cabe destacar que no todos los alimentos se calientan de la misma forma ni a la misma velocidad, por lo cual no es fácil calentar un alimento hasta el punto adecuado en el centro sin excederse en la cocción de las partes exteriores. Además el calentamiento irregular crea puntos calientes que pueden quemar los alimentos. El espesor de la pieza no sólo influye en este calentamiento sino también en el tiempo requerido para alcanzar el punto deseado. Éste método se denomina técnica seca, debido a que las altas temperaturas deshidratan rápidamente la superficie, mientras que en el interior predomina el agua, por lo que nunca supera los 100°C. Si bien las altas temperaturas en la superficie del alimento favorecen las reacciones de Maillard que generan nuevos sabores, aromas, texturas y colores; éste método utilizado en los alimentos un tiempo excesivo, puede generar que el exterior se cocine demasiado mientras que el interior permanece crudo.

El sellado es una técnica habitual de cocción que consiste en colocar la pieza de carne sobre una superficie (plancha o sartén) bien caliente y dorarla en todas sus caras, de forma que la parte exterior adquiera un tono tostado (debida a reacciones de pardeamiento no enzimático de Maillard). Es necesario terminar de cocinar el alimento con otra técnica (como puede ser el horno y reducir el calor utilizado) ya que si bien por fuera se observa tostado, por dentro se permanece crudo (Ministerio de Agroindustria, 2016).

El calor recibido durante la cocción influye en las características de la carne, como la jugosidad y textura. La miosina presente en la carne comienza a coagularse cuando la pieza alcanza los 50°C, lo cual le da cierta solidez y firmeza al alimento. Si se continúa con el proceso de cocción, en el entorno de los 60°C, la mioglobina comienza a desnaturalizarse y cambiar de color, al mismo tiempo que se desnaturalizan las proteínas de las fibras musculares, coagulándose dando firmeza a la carne.

En el entorno de los 65°C, debido a la desnaturalización del colágeno principalmente, la carne pierde volumen y libera mucho jugo. Este punto o grado de cocción se conoce como medio hecho, y se caracteriza porque la carne se encuentra más seca y rígida.

Al disolverse el colágeno convirtiéndose en gelatina, las fibras musculares que se mantenían unidas se van separando con facilidad, dando como resultado una carne más tierna. Esto se observa en el

entorno de los 70°C. Esta textura puede reconocerse en carnes estofadas, que fueron cocinadas a fuego lento.

El color de la carne y sus jugos puede indicar el grado de cocción. En una carne poco hecha el color predominante es el rojo al igual que sus jugos, en cambio en la moderadamente hecha se observa un color más rosado de los mismos. En la carne muy hecha mientras que los jugos son transparentes, la carne toma un color pardo-grisácea (Christensen et al., 2000; Panea et al., 2010).

Tabla 9. Métodos de cocción.

MÉTODOS DE COCCIÓN	DESCRIPCIÓN
PARRILLA	*Carne asada sobre una rejilla metálica directamente sobre la fuente de calor (Brasas, llama de gas, bloques cerámicos calentados por una llama de gas o un elemento eléctrico). *Adecuado para cortes como colita de cuadril, lomo, entraña, costillas, asado de tira, asado de vacío.
GRATINAR	*Carne asada en un recipiente bajo la fuente de calor (Brasas, llama de gas, bloques cerámicos calentados por una llama de gas o un elemento eléctrico)
HORNO	*Medio más indirecto y uniforme. *Corrientes de convección de aire caliente y radiación infrarroja de las paredes. *Método lento adecuado para piezas grandes de carne *Cocciones secas a baja temperatura son adecuadas para cortes tiernos como colita de cuadril, asado de vacío, lomo.
PLANCHA	*Salteado de la pieza mediante conducción directa de calor desde una sartén metálica caliente hacia el alimento. *Debido a la buena conducción de calor por el metal es una cocción rápida. *La cocción seca no tierniza los tejidos, deben utilizarse cortes tiernos. *La carne se sella a fuego alto para impedir que se pierda el jugo, se termina la cocción a fuego más lento hasta alcanzar el grado deseado. *No se deben pinchar los cortes, ya que rompe las fibras y se pierde mucho jugo *capacidad de dorar y dar sabor a la superficie de la carne *Método de cocción para piezas finas y tiernas (cuadril, lomo, entraña)
ESTOFADO	*Carne cocinada en medio líquido (caldos, agua, leche, vino, cerveza) *El medio de cocción transmite el calor rápida y uniformemente *No se logra el tostado de la superficie de la carne *Temperatura máxima es la del medio *Solubilización parcial de minerales por migración de nutrientes a la solución
VAPOR	*Contacto directo del alimento con el vapor de agua *Puede ser a presiones reducidas, a altas presiones *Menor pérdida de nutrientes hidrosolubles
MICROONDAS	*Carne cocinada mediante horno de microondas. *Las ondas radiantes generadas en el microondas produce que las moléculas de agua del tejido del alimento vibren y roten y a su vez ellas calientan el resto del tejido.

Si bien el aspecto de la carne es una guía subjetiva del punto de cocción, es necesario controlar la temperatura de la misma para asegurar que la pieza alcanza en su centro la temperatura mínima para matar a los microorganismos patógenos y que el alimento sea inocuo.

Generalmente se busca obtener una carne tierna y jugosa. Para ello debe buscarse un método que se adapte al tipo y corte de carne. Existen diversos tipos y métodos de cocción, no existiendo uno ideal, ya que cada consumidor puede tener diferentes preferencias.

Asar a la plancha o a la parrilla, son dos métodos habituales que son adecuados para la cocción de piezas tiernas.

En el proceso de cocción influyen innumerables factores como la temperatura inicial de la carne, las temperaturas reales de hornos y sartenes, el procedimiento utilizado (como el número de veces que se da vuelta la pieza de carne, la cantidad de veces que se abra la puerta del horno, etc.), el tiempo de cocción, el tipo y grosor de la porción de carne, su contenido de grasa, hueso, etc. Esto dificulta la sistematización del procedimiento.

Obtener una temperatura interna final adecuada en el centro de una pieza de carne para un punto de cocción deseado, no es una tarea sencilla. Esto se debe a que si se desea asar una pieza gruesa a medio punto, para que su centro alcance temperaturas cercanas a 60°C, significa que su superficie debió alcanzar temperaturas muy superiores al punto de ebullición, secándose. Entre el centro y la superficie se genera un gradiente de temperaturas por lo que la mayor parte de la carne estará cocinada en exceso. Para obtener una carne con una cocción más uniforme, existen diferentes estrategias. Una de ellas es dividir el proceso en dos etapas, un tostado inicial a alta temperatura y terminado a temperatura más baja.

Si se sella la pieza de carne en una superficie a alta temperatura (plancha o sartén), se evapora la humedad del exterior del alimento. Esto genera una costra superficial que interfiere en la transferencia de calor hacia el centro retardando el proceso de cocción. Si se continuara la cocción en la plancha de una pieza gruesa, el exterior se sobre cocinaría mientras que el interior permanecerá crudo. Para evitar sobrepasar la zona de cocción deseada, se debe retirar la carne antes de que esté completamente hecha. A continuación la pieza se introduce en el horno, de forma tal que la diferencia de temperatura entre el centro y la superficie sea menor. De esta forma se logra terminar la cocción más lentamente, de forma uniforme y que el interior se cocine adecuadamente.

Una forma objetiva para determinar el punto final en una cocción, es medir la temperatura interna con un termómetro.

La cocción en horno se da mediante los mecanismos de convección y radiación. La radiación de la fuente calorífica calienta el aire circundante. Luego la convección del aire caliente que rodea al alimento lo cocina. La superficie del alimento está expuesta a alta temperatura, por lo que se

deshidrata y pardea. Este método de cocción es más lento que los que emplean calor directo mediante conducción.

Según el tipo de cocción que se elija, el valor nutritivo del alimento cambiará. Durante la aplicación de calor al producto, éste pierde peso debido a que disminuye el agua contenida (excepto en el hervido). Según Zhang et al. (2005) y Pearce et al. (2011), la capacidad de retención de agua en carne (CRA) es la habilidad de la carne para retener su agua constitutiva cuando se le aplica alguna fuerza externa como puede ser el corte, picado, cocción o prensado entre otras pérdidas. La cantidad de jugo que se desprende de la pieza (que no es solamente agua ya que funde la grasa a temperaturas elevadas y se destruyen estructuras), depende de diversos factores como el tipo de carne, el tiempo de cocción, la temperatura aplicada. La pieza se reduce en su tamaño debido a que las fibras musculares se contraen.

La carne es un alimento vulnerable a la colonización de microorganismos, lo que lo hace muy perecedero. Estos microorganismos no sólo transforman el alimento generando olores, sino que pueden invadir el organismo humano generando infecciones y/o producir toxinas causando intoxicaciones alimentarias. Los tratamientos térmicos permiten obtener alimentos más sanos y duraderos ya que tiene la capacidad de inactivar y eliminar agentes biológicos patógenos.

El consumo de carne cruda o poco hecha (con una cocción insuficiente) aumenta el riesgo de contraer enfermedades debido a la transmisión de agentes patógenos que puede albergar el alimento, por lo que es más seguro comer carne bien cocida.

La USDA recomienda como temperaturas mínimas de cocción segura para el punto poco cocido 62,8°C, para el medio 71°C y para el muy hecho 77°C.

Una de las principales dificultades es conseguir que el calor llegue a todas las partes del alimento de forma uniforme y homogénea.

El tiempo empleado en el tratamiento térmico es un factor fundamental, ya que cuanto mayor es el espesor de la pieza o la cantidad de alimento, más tiempo deberá someterse al calor.

Luego de retirar un corte de carne de la fuente de calor, la temperatura interna continúa aumentando debido al calor residual que queda en él. Debido a esto la pieza debe retirarse de la fuente de calor cuando la temperatura interna es más baja que la cocción deseada (Hormel Foods, 2021; Alfaia, 2013).

1.2.3.a. Factores de ganancia o pérdida de nutrientes debido a la cocción en alimentos.

Es importante disponer de información sobre el aporte nutricional de los alimentos en la dieta de la población ya que la nutrición y la salud son aspectos fundamentales para el desarrollo de las sociedades. A partir de 1992 en la Conferencia Internacional sobre la Nutrición auspiciada por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) se hizo énfasis de la necesidad de contar con información sobre composición de alimentos adecuada y confiable que pudiera ser utilizada para cumplir los requisitos de mercadeo, etiquetado, reglamentación sanitaria comercial y oficial que exige el comercio de alimentos y que ha sido plasmado en tratados internacionales (FAO, 1992). Por medio de la Declaración Mundial sobre Nutrición se comprometieron 159 países, a fomentar el mejoramiento y diseño de planes de acción en pro de la nutrición de la población, incluyendo especialmente trabajos sobre composición de alimentos. Posteriormente se planteó la necesidad de prevenir y controlar las carencias de micronutrientes, estableciendo un plan de acción para fortalecer los trabajos de actualización sobre composición de alimentos (FAO, 1994).

Al someter a los alimentos a diferentes tratamientos térmicos culinarios, su composición química y estructural cambia, disminuyendo o aumentando la concentración de sus nutrientes. Debido a que una gran proporción de alimentos se cocina o se prepara para consumir, es necesario evaluar el aporte nutricional de los mismos. Para evaluar esta pérdida o ganancia de nutrientes que presentan los alimentos previo y posterior a la cocción es necesario determinar los porcentajes de conservación de los mismos. La mayoría de las bases de datos de alimentos proporcionan información principalmente en la composición de nutrientes de los alimentos crudos. Es necesario incluir la composición de nutrientes de los alimentos cocidos y preparados para actualizar y armonizar las bases de datos de composición de alimentos.

El análisis químico de alimentos cocidos implica altos costos en términos de tiempo y dinero, lo cual es poco práctico para aplicar para estudios epidemiológicos, instituciones, cocinas, hogares, etc. Es virtualmente imposible analizar todos los platos y otros alimentos preparados, por lo cual el cálculo de la composición de nutrientes sigue siendo el método de elección.

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), describe una metodología para calcular el valor de los nutrientes en alimentos cocidos sin necesidad de analizarlos químicamente. Para ello se vale de factores de retención que al multiplicarlos por los valores correspondientes a los niveles de nutrientes en el alimento crudo resulta en el valor de los mismos en los alimentos cocidos.

Esto permite que tomando datos analíticos de niveles de nutrientes en alimentos crudos se pueda obtener el correspondiente al alimento cocido.

Los estudios sobre retención de nutrientes buscan dar respuesta a las necesidades de consumo en una dieta sana, nutrición adecuada y prevención de enfermedades crónicas. Es importante definir e informar el tiempo óptimo de preparación de los alimentos (García et al. 2005; Moncada y Gualdrón 2005).

Carchipulla y Torres (2017) realizaron un estudio comparativo de los valores de nutrientes en alimentos cocidos obtenidos por análisis, con los valores de los nutrientes de alimentos cocidos obtenidos por cálculos, con factores de ganancia y/o pérdida (denominados también factores de rendimiento y retención) de nutrientes. Para dicha evaluación de los factores de ganancia y/o pérdida se empleó la metodología descrita por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), en la que enuncia que los valores de los nutrientes crudos multiplicados por sus respectivos factores de retención resulta en el valor de los nutrientes de los alimentos cocidos sin necesidad de analizarlos químicamente. Esto significa que los valores nutritivos de un alimento se pueden obtener mediante cálculos, que constituyen una alternativa rentable y aceptable, si es aplicada correctamente (Bognár y Piekarski, 2000; FAO/INFOODS, 2012; Moncada y Gualdrón, 2006).

El factor de rendimiento (YF, yield factor) o factor de retención (RF, retention factor) corresponde al porcentaje de conservación de nutrientes en un alimento o plato después de la preparación, procesamiento u otro tratamiento que puede causar degradación o lixiviación de los componentes (Bell et al., 2006).

Existen varios algoritmos para el cálculo del factor de rendimiento, siendo el más destacado el de Bognár y Piekarski (2000) en el cual, el factor de retención de nutrientes por 100 gramos de alimento es igual al contenido de nutrientes por 100 gramos del mismo cocido sobre el contenido del nutriente por 100 gramos de ingrediente crudo.

$$\% R = \frac{\text{Contenido del nutriente/100 g de carne cocida} \times \text{peso (g) de la carne cocida}}{\text{Contenido del nutriente/ 100g de carne cruda} \times \text{peso (g) de la carne cruda}} \times 100$$

Ecuación 1. Expresión descrita por Bognár y Piekarski (2000).

Con el objetivo de evaluar como afecta la cocción aplicada a algunos cortes de carne vacuna de consumo en Uruguay, se estudió el porcentaje de retención del micronutriente luego de este proceso. Para ello se utilizó la ecuación descrita por Bognár y Piekarski (2000), en la que se relaciona la pérdida

de peso que sufre el corte luego de la cocción y la concentración de nutriente determinada antes y luego de dicha cocción (Bognár y Piekarski, 2000).

En general la forma de expresión de datos de composición de alimentos se realiza en cantidades de masa (BIPM, 2003; NIST, 2003b) a efectos de la composición de los alimentos se entiende que es el peso y por convenio los datos se suelen notificar por 100g de porción comestible.

Para el cálculo de la composición de platos preparados, FAO sugiere que es necesario conocer el rendimiento o el cambio de peso durante la cocción (es decir, el peso del plato crudo y cocinado). Varios autores han publicado directrices sobre los procedimientos de cálculo (Rand et al., 1991; Bognár y Piekarski, 2000).

Las formas de expresión de la información deben ser compatibles con los sistemas de bases de datos de composición de alimentos (Klensin et al., 1989). En la mayoría de los casos se deben utilizar como base los convenios nutricionales ya bien arraigados o los acuerdos internacionales sobre el uso preferido.

En la versión más sencilla del procedimiento de cálculo solamente se tiene en cuenta que la pérdida durante la cocción supone la pérdida o ganancia de agua. (Bergström, 1994; USDA, 2003c)

Los factores de retención pueden ser expresados como valores entre 0 y 1 o como porcentaje de retención (0 a 100%), donde 0 representa que se pierde totalmente el nutriente, es decir, no se retiene con la cocción y 100% que se conserva totalmente la cantidad de nutriente del alimento crudo al ser cocinado.

Hasta el momento, la mejor fuente internacional de datos sobre la retención de nutrientes, es presentada por USDA, quien informa dichos factores para 16 vitaminas, 8 minerales y alcohol correspondiente a 290 alimentos aproximadamente, preparados mediante diferentes métodos de cocción (USDA, 2007).

Las tablas de composición de alimentos constituyen una herramienta imprescindible para realizar una valoración nutricional de alimentos o de ingestas. Mediante la utilización de factores de rendimientos de cocción, se reflejan los cambios (pérdidas o ganancias) de masa en los alimentos como resultado del proceso culinario.

Las diferencias entre las tablas de composición de alimento y los análisis químicos son variables dependiendo de la fuente bibliográfica consultada. Algunas diferencias pueden explicarse por la variabilidad natural de los alimentos (alimentación animal, fertilización del suelo, grado de

maduración, región de origen, etc.), cambio en la composición de los alimentos durante la preparación, diferentes métodos analíticos usados, posibles inexactitudes del método analítico, tratamientos tecnológicos, plan de muestreo entre otros (Pérez, 2013).

Según USDA al menos 25 muestras serían necesarias para mejorar la fiabilidad de la estimación del valor medio de un nutriente.

En las pérdidas reales de nutrientes en un alimento específico, intervienen múltiples factores, principalmente tiempo-temperatura, pero también el tipo y estado del alimento, la manipulación previa y el método de cocción. Hasta el momento, la forma más precisa de calcular estas pérdidas nutricionales es aplicar factores de retención de nutrientes establecidos por convenio según grupos de alimentos y técnicas culinarias. Los estudios de revisión y actualización del conocimiento de los diferentes métodos culinarios más comúnmente empleados, así como los de otros más innovadores, son fundamentales y deberían llevarse a cabo regularmente para asegurar una mejora continua de la calidad, tanto nutricional como gastronómica, de las diferentes elaboraciones.

Los minerales no se deterioran notablemente por el tratamiento térmico, pero pueden perderse con el agua de cocción o en los líquidos que desprenden las carnes.

Diferentes métodos de asado (plancha, parrilla, barbacoa, horno, etc.) que gozan de gran popularidad debido al buen sabor que proporcionan a los alimentos, permiten retener el jugo de los alimentos en el interior debido a la costra crujiente que forman en su superficie, minimizando pérdidas de nutrientes debidas a lixiviación y pérdidas de agua.

Los rendimientos de cocción describen cambios en el peso de los alimentos debido a pérdidas (evaporación, goteo) o ganancias (absorción) de humedad, grasas, reacciones que se produzcan, etc. Los diversos métodos de preparación de alimentos, y los factores como por ejemplo los tiempos y temperaturas empleados influyen en dichos rendimientos, por lo que es esencial revisar y actualizar los datos existentes y adquirir nuevos.

Las tablas de rendimientos de cocción, brindan información sobre el impacto de los métodos culinarios y su rendimiento, para estimar el aporte nutricional de los alimentos. Este conocimiento resulta beneficioso tanto para investigadores, científicos, profesionales de la nutrición, para la industria y consumidores en general, ya que es un recurso práctico para tomar decisiones sobre planes alimentarios y preparaciones de alimentos, para poder maximizar los rendimientos de cocción, optimizar el aporte de nutrientes y obtener resultados deseados.

Debido a que las carnes son productos que usualmente se consumen luego de ser sometidos a procesos de cocción, la USDA desarrolló una tabla de rendimiento para este alimento.

Se han reportado pérdidas de humedad en la carne de res cocida, debido a la rápida migración del agua hacia su superficie, facilitando su evaporación. La pérdida de minerales como consecuencia del tratamiento térmico, conduce a una disminución del valor nutricional de los alimentos. La magnitud de dicha pérdida depende del medio de cocción. La carne cocida puede mostrar una mayor concentración de hierro respecto a la carne cruda debido a las pérdidas de humedad durante el calentamiento. Se han realizado pocos estudios sobre la retención de minerales en carnes cocidas. Por lo cual el presente estudio presenta información novedosa y relevante al respecto.

Lombardi-Boccia et al. (2005) reportaron los porcentajes de retención para Cu (entre 71% y 75%), para Zn (83% a 87%) y para Fe (84% a 88%) de algunas carnes de res en Italia, encontrando que para estos elementos el contenido total variaba luego de la cocción (Lombardi-Boccia, et al., 2005).

Según estudios, el Fe hemo disminuye luego de los procesos de cocción por conversión en Fe no hemo y por lixiviación. Gandemer (2020) plantea que a temperaturas inferiores a 80°C el hierro hemo se pierde por lixiviación, mientras que por encima de 80°C la proteína del hemo se coagula, la expulsión en el jugo se detiene pero permanece la conversión de hierro hemo en hierro no hemo (Lombardi-Boccia et al., 2002; Gandemer, 2020).

1.2.4 Ganadería

La producción ganadera constituye una actividad económica de particular relevancia en el país, en el cual principalmente la exportación de carne vacuna constituye uno de los principales rubros de generación de divisas para Uruguay (Cabrera et al., 2010; Costas, Herrera, Correa, 2010).

Según las últimas estadísticas publicadas por el Instituto Nacional de Carnes (INAC), en 2019 la producción nacional de carne vacuna ascendió a 440 mil toneladas aproximadamente, de los cuales 107 mil se comercializaron en el mercado doméstico. La carne bovina representó el 83,4% del ingreso total por exportaciones del sector cárnico donde el principal destino fue China, seguido por el mercado del NAFTA y la Unión Europea (INAC, 2019; MGAP, 2020).

1.2.4.a. Trazabilidad

Se conoce como trazabilidad, la capacidad técnica para identificar el origen de un animal o de sus productos, tan alejado en la secuencia de producción como sea necesario.

En nuestro país la integración colaborativa del Sistema Nacional de Información Ganadera (SNIG) y el Sistema Electrónico de Información de la Industria Cárnica (SEIIC) permiten asegurar la trazabilidad de la carne vacuna en cualquier punto de su proceso de obtención. Mediante caravanas colocadas en los vacunos, se los identifica y se puede conocer de un determinado corte de carne información sobre el animal del cual proviene, el proceso que siguió dentro del frigorífico hasta la obtención del mismo (Zurbriggen y Sierra, 2017).

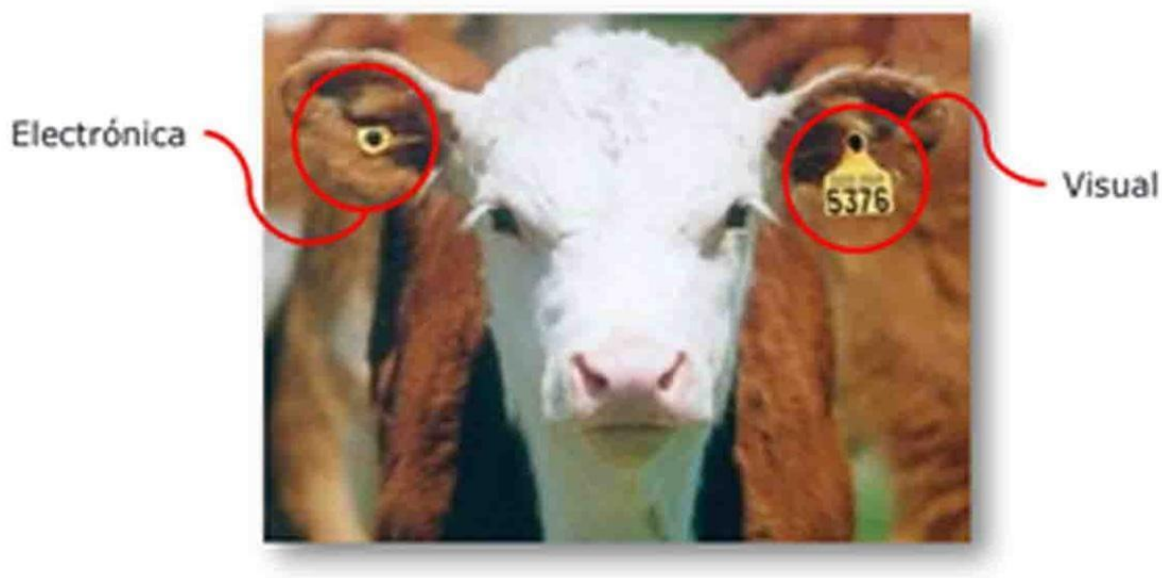


Figura 4. Identificación individual del ganado vacuno.

1.2.4.b. Alimentación

La producción bovina en Uruguay se basa en pasturas naturales, en 2019 cerca del 90% fue realizada en este sistema (INAC, 2019b, Cabrera, M., Saadoun, A.; 2014; MGAP, 2020). Esto se traduce en la producción de alimentos de alto valor para la salud con características distintivas (Cabrera et al., 2010; De la Fuente et al., 2009; del Campo et al., 2008; Oliver y col., 2006; Realini et al., 2009).

El *feedlot* es un sistema intensivo donde los animales se encuentran en corrales y se les suministra una alimentación balanceada en base a concentrados. Consiste en realizar la cría a base de pasturas de los animales y en los últimos 90 a 120 días se los alimenta mediante una dieta altamente energética basada en granos (maíz y/o sorgo y en menor medida trigo, avena). El objetivo es producir la mayor cantidad de carne en el menor tiempo y al menor costo posible. En Uruguay este sistema se utiliza para la terminación del engorde y ha cobrado importancia en los últimos años (Gossi et al., 2010).

Se han reportado diferencias entre la carne de los animales alimentados mediante feedlot respecto a los alimentados con pastura exclusivamente. Los animales alimentados utilizando feedlot presentan una carne con mayor cantidad de grasa intramuscular y saturada que los alimentados a pasto. Mientras que éstos últimos poseen una carne de sabor más fuerte, característica altamente valorada en el mercado por los consumidores (Cabrera et al., 2010; Gossi et al., 2010; Oliver y col., 2006; INIA, 2014).

En Uruguay se ha desarrollado el Programa de Carne Natural Certificada para responder a las crecientes demandas de los consumidores de carnes rojas altamente exigentes, entre ellas que la alimentación del ganado del cual proviene la carne sea únicamente con pasturas. Este emprendimiento garantiza que los sistemas de producción y trazabilidad están certificados por terceras entidades independientes reconocidas internacionalmente para avalar la “Marca país” a través de un Protocolo de Certificación. Este programa permite obtener un producto diferenciado y de valor agregado posicionando a Uruguay en un lugar destacado.

https://www.inac.uy/innovaportal/file/6351/1/algunas_definiciones_practicas.pdf



Figura 5. Sistema intensivo (01), sistema extensivo (02)

1.2.4.c. Razas

Según la última Encuesta Ganadera Nacional (EGN) de 2016 (MGAP, 2017), la raza predominante es Hereford, la cual representa el 39% del ganado vacuno. Esta raza tiene adecuadas aptitudes carniceras y excelente adaptación al medio con buen rendimiento (<https://www.hereford.org.uy/>).

En orden de importancia le sigue Aberdeen Angus representando el 22% del ganado bovino (INAC, 2009; AINFO-INIA, 2019). Se caracterizan por poseer muy buena calidad de carne, destacándose su ternura y sabor debido a la grasa intramuscular (marmoreo) (<https://angusuruguay.com/la-raza/>).

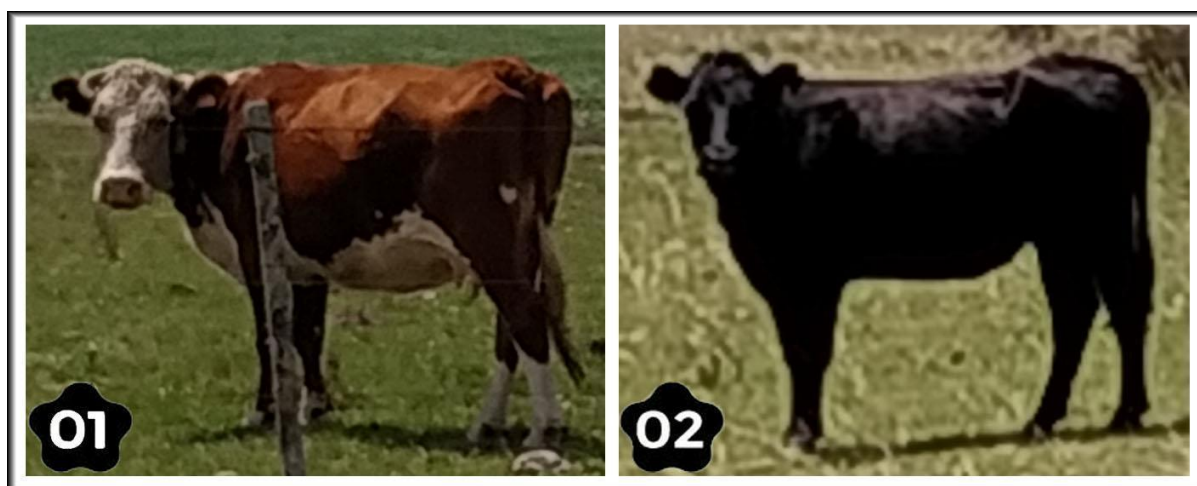


Figura 6. Ganado vacuno de raza Hereford (01) y raza Aberdeen Angus (02)

1.3. Análisis de oligoelementos

Las medidas analíticas no son una etapa independiente en sí misma, ya que dependen de un proceso interactivo que incluye diversas etapas previas. La calidad de un resultado analítico depende en forma crítica de la representatividad, integridad, preservación y adecuado tratamiento de las muestras objeto de análisis. Ningún resultado analítico es mejor que la calidad de la muestra obtenida.

Para el análisis y determinación de elementos inorgánicos en matrices complejas como lo son los alimentos, a menudo se requiere obtener disoluciones donde se extraigan cuantitativamente los mismos y se elimine la totalidad de la materia orgánica. Para esto se necesita preparar las muestras previamente al análisis de la concentración del mineral. Un procedimiento ideal sería rápido, simple, con la menor manipulación de muestra posible, logrando una completa disolución de la muestra, sin dejar ningún residuo. Es necesario tener en cuenta ciertos factores para poder decidir qué técnica analítica es la más adecuada y que preparación de muestra realizar. Entre ellos cabe mencionar el porcentaje de materia orgánica, el nivel de concentración del elemento (si es mayoritario, minoritario o está presente como trazas), el objetivo del análisis (si se quiere informar el contenido de minerales totales o la cantidad de cada elemento presente).

En técnicas como la espectrometría atómica se requiere necesariamente que las muestras estén en forma líquida. Un alto porcentaje de los materiales inorgánicos son en general, poco solubles en agua u otros disolventes y solamente pueden solubilizarse luego de aplicar un proceso químico de pretratamiento (o preparación) de las muestras, denominado digestión. Esta digestión podrá ser más o menos drástica según la cantidad de materia orgánica que contenga la muestra. Cuanto mayor sea el tenor de materia orgánica que contenga la muestra, se necesitará mayor cantidad de algún ácido

oxidante (por ejemplo, HNO_3 concentrado), mayor temperatura y tiempo de digestión (consumo de energía).

Los métodos tradicionales de mineralización de la materia orgánica para muestras de alimentos implican la digestión húmeda con mezclas de ácidos oxidantes, tales como el ácido nítrico, el ácido sulfúrico o mezclas de ambos en diferentes proporciones y, en uso limitado, también se recomienda el ácido perclórico. De acuerdo con los métodos oficiales de la AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*), la mineralización de la materia orgánica se realiza por los métodos tradicionales de digestión húmeda y de calcinación. Es importante tener en cuenta que el método de tratamiento de la muestra debe ser compatible con la técnica seleccionada (Skoog et al., 2008).

1.3.1. Método de preparación de muestras mediante extracción asistida con microondas

Para la extracción cuantitativa de elementos inorgánicos (Fe, Cu, Zn) a partir de matrices complejas como lo son los alimentos, en este caso la carne, se requiere de un tratamiento previo. Dichos tratamientos deben optimizarse y validarse para esta matriz.

Actualmente existen hornos de microondas analíticos que son muy utilizados para realizar la descomposición de muestras para diversas matrices. Los fundamentos teóricos que rigen la interacción de la radiación microondas con la muestra y con los reactivos utilizados en la descomposición son en forma genérica los que regulan la interacción entre la materia y energía. La radiación magnética de microondas, portadora de energía, se encuentra en la franja de frecuencias del espectro electromagnético comprendido entre 300 a 300000 MHz.

Las Microondas (Microwave, MW) son una radiación electromagnética no ionizante, situadas en una banda del espectro electromagnético entre el infrarrojo y radiofrecuencias. Esta radiación es capaz de interaccionar con materiales y sustancias dieléctricas en forma tal que la energía transportada por las microondas se disipa dentro de la sustancia en forma de calor elevando su temperatura. Este fenómeno puede ser aprovechado para llevar a cabo el calentamiento con microondas. Dado que el calentamiento con microondas se produce en el interior de las sustancias, las pérdidas de calor por convección o radiación son mínimas, por lo que este tipo de calentamiento puede resultar mucho más eficaz que el calentamiento convencional.

Esta radiación portadora de energía no ionizante provoca el movimiento por migración de iones y rotación de dipolos, pero no causa cambios en la estructura molecular, debido a que no es suficiente para romper los enlaces de las moléculas comunes. A diferencia del calentamiento por conducción,

en el cual la temperatura de la superficie externa es mayor que el punto de ebullición de la solución, en el calentamiento mediante microondas las paredes del recipiente contenedor son transparentes a ella por lo que presentan menor temperatura que la de la solución.

Las ondas electromagnéticas se generan en un magnetrón, compuesto por un ánodo y un cátodo y una cavidad. Se aplica una diferencia de potencial entre ánodo y cátodo constante y se produce un campo magnético axial producido por un imán permanente o un electroimán.

La descomposición de diversos materiales puede llevarse a cabo a presión atmosférica pero la temperatura de trabajo queda restringida, ya que la temperatura de ebullición del solvente o ácido empleado depende de la presión. Debido a que el grado de descomposición está relacionado con la temperatura, esta condición restringe el tiempo mínimo necesario para la digestión de la muestra. Se puede aumentar la velocidad de reacción, cerrando herméticamente la mezcla de muestra y ácido en un sistema resistente a la presión y a la temperatura.

El ácido nítrico no es un agente oxidante suficientemente fuerte para descomponer completamente el material orgánico en sistemas abiertos. No obstante, tiene como ventaja su bajo riesgo de explosión. Su potencial de oxidación es directamente proporcional al aumento de su temperatura, por lo que su eficiencia de descomposición depende de la misma. En sistemas abiertos, la temperatura máxima es la de su azeótropo (aprox. 120°C), pero en sistemas cerrados se puede llegar a temperaturas de ebullición de 300°C.

La descomposición de materia orgánica utilizando sistemas cerrados a alta presión es muy utilizada. El ácido nítrico puede utilizarse en sistemas cerrados de descomposición y evitar las pérdidas por volatilización.

Las temperaturas utilizadas para la descomposición están asociadas al material del recipiente; el PTFE (Politetrafluoroetileno) dependiendo de su calidad, permite emplear temperaturas entre 160-200°C. Para temperaturas más altas este polímero pierde la resistencia física.

La masa de la muestra que puede tratarse en un sistema cerrado queda determinada por la máxima presión permitida en el recipiente de descomposición empleado. Los gases que generalmente se forman durante la descomposición son los siguientes: CO₂, proveniente del carbono de la muestra, NO/NO₂ de la reacción del HNO₃ y vapor de agua.

Los tratamientos de muestras asistidos con microondas son reconocidos como un tratamiento de comprobada eficiencia para muestras complejas, además el uso de ácido diluido ha sido utilizado con excelentes resultados en algunas matrices complejas (Barbosa et al., 2015).

Una meta a alcanzar fue desarrollar un único tratamiento, utilizando digestión asistida con microondas, que sea eficiente para la extracción de todos los elementos a determinar (extracción multielemento) y utilizando un único ácido diluido, en contraposición con los métodos estándar de análisis de alimento.

1.3.2. Métodos instrumentales de análisis

1.3.2.a. Espectrometría molecular UV-Visible

La espectrometría de absorción molecular UV-Visible es una técnica analítica basada en la medición de la absorción de radiación por determinadas moléculas. La radiación correspondiente a estas regiones del espectro electromagnético provoca transiciones electrónicas a longitudes de onda características de la estructura molecular de un compuesto. Esto permite determinar la concentración de un compuesto en solución debido a su capacidad de absorber radiaciones electromagnéticas en forma proporcional a su cantidad. Para realizar este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de radiación absorbida por la sustancia.

La ley de Lambert-Beer expresa la relación entre absorbancia de luz monocromática (de longitud de onda fija) y concentración de un cromóforo en solución. $A = \log(I/I_0) = a \cdot b \cdot C$. La absorbancia de una solución es directamente proporcional a su concentración.

Es recomendable la utilización de métodos de referencia para el análisis de composición y evaluación de las características en diferentes matrices como la carne para obtener datos que sean internacionalmente comparables.

Debido a la falta aparente de métodos acordados internacionalmente para la evaluación de algunos parámetros en análisis de minerales en carne, un grupo de trabajo de la Comisión de la Comunidad Económica Europea (CEE) decidió promover la aplicación y coordinación de métodos de referencia acordados. Entre estos métodos recomendados, se encuentra el método de Hornsey (1956), (Boccard et al., 1981), el cual es de amplio uso para determinar pigmentos hemínicos en carnes (Anton, 2005).

Este método consiste en la determinación de hierro hemo mediante su extracción con un disolvente orgánico (acetona). Mediante la adición de ácido clorhídrico se obtiene la sal (clorhidrato de hematina). Luego se mide en espectrofotómetro la intensidad de la coloración.

Los distintos estados de óxido reducción de la mioglobina se caracterizan por tres espectros de absorción. La mioglobina tiene una absorción máxima en 555 nm, mientras que la mioglobina oxigenada tiene el máximo entre 542 y 580 nm. Entre 505 y 530 nm se encuentra el máximo de la metamioglobina. Existe una longitud de onda (525 nm) para la cual la absorción de luz es idéntica para las tres formas del pigmento (Stewart y col. 1965; Alberti, 2000).

Hornsey (1956), describió un método espectrofotométrico simple y rápido para extraer y medir selectivamente Fe Hemo (proveniente de mioglobina y hemoglobina), teniendo en cuenta la humedad de la carne. Debido a que el contenido de la hemoglobina residual es muy bajo, la estimación de la tasa de mioglobina obtenida por este método es muy cercana al valor real.

Existen diversos factores que influyen en la variabilidad del contenido de hierro hemo en carnes. Entre ellos se encuentran los procesos térmicos en sí, que dependiendo del grado y tipo de cocción influyen fuertemente en la proporción en la cual se degrada el grupo hemo en la carne.

Tabla 10. Contenido de hierro total, hierro hemo (FeH), hierro no hemo (Fe NH) en carnes crudas y cocidas mg/100 g peso fresco (Lombardi-Boccia et al., 2002a)

	CRUDO			COCIDO		
	Fe total	Fe H	Fe NH	Fe total	Fe H	Fe NH
POLLO	0,59	0,22	0,37	1,01	0,28	0,73
PAVO	0,79	0,35	0,44	1,25	0,45	0,80
VACA	2,09	1,82	0,28	3,39	2,63	0,77
CERDO	0,42	0,26	0,17	0,64	0,39	0,24

Tabla 11. Porcentaje de hierro hemo en hierro total crudo y carne cocida (Lombardi-Boccia et al., 2002a)

	% Fe Hemo crudo	% Fe Hemo cocido	% pérdida
POLLO	38	28	28
PAVO	42	35	18
VACA	87	78	11
CERDO	62	61	7

1.3.2.b. Espectrometría atómica

Existen tres grandes tipos de métodos espectrométricos para identificar los elementos presentes en la materia y determinar sus concentraciones (espectrometría óptica, espectrometría de masas y espectrometría de rayos X). En espectrometría atómica ya sea de emisión o de absorción se miden átomos. Es una técnica de análisis elemental.

En los métodos instrumentales se construyen curvas de calibración. Se grafica la señal analítica en función de la concentración o masa del analito. La forma de modelado más habitual es lineal sin ordenada en el origen.

Se puede trabajar en emisión o en absorción atómica. En emisión atómica se puede lograr la excitación de electrones externos de los átomos mediante calor por ejemplo una llama. Hay otro tipo de fuentes más caloríficas que una llama como puede ser un plasma, una chispa o un arco eléctrico. Se mide la radiación emitida cuando los electrones que llegaron mediante esa energía al estado excitado vuelven al estado fundamental emitiendo fotones. La radiación se puede medir con determinados detectores.

En absorción atómica, se necesita una fuente externa de radiación electromagnética que excite a esos electrones a una longitud de onda característica.

En espectrometría atómica se necesita obtener átomos libres en estado gaseoso a partir de una muestra líquida. Para ello se necesita un proceso físico denominado atomización. Este proceso mediante el cual la muestra líquida pasa a un vapor atómico involucra una serie de etapas y de esto depende en gran parte la exactitud del método.

En la emisión atómica la vaporización de la muestra se da en forma térmica, mediante una fuente de calor que puede ser una llama, plasma, etc. La muestra líquida se vaporiza, se disocia térmicamente y ese propio calor va a poder lograr en muchos casos (dependiendo el potencial de ionización) que se exciten esos electrones de esos átomos.

En la absorción atómica si bien la vaporización, disociación se da en forma térmica, la excitación requiere de una fuente externa, energía electromagnética proveniente de una lámpara que emita a la radiación característica del elemento que se quiere determinar (Skoog et al., 2008).

1.3.2.b.1. Espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS)

La espectrometría de Absorción Atómica de Llama (*Flame Atomic Absorption Spectrometry, FAAS*) es una técnica ampliamente utilizada y permite la detección y determinación de metales hasta en el orden de partes por millón (ppm).

La muestra líquida se coloca en la entrada del instrumento, el cual mediante un capilar va a aspirar la muestra (sistema de bombeo, aspiración). El nebulizador forma una niebla, un aerosol líquido. Luego se evapora el solvente con el calor y se obtiene un aerosol en estado sólido. A continuación se da la volatilización y se obtienen moléculas gaseosas. Finalmente ocurre la disociación y se obtienen los átomos gaseosos. El mecanismo central deseado para obtener resultados correctos, conduce a la medición de átomos gaseosos. Aunque pueden sucederse mecanismos laterales que alteran la llegada al punto deseado, disminuyendo los átomos del elemento al final. Estas reacciones laterales compiten con ese mecanismo central y al ser equilibrios químicos, es difícil que no se den en cierta medida. Estos procesos hacen que la atomización sea la etapa más crítica en la espectrometría de llama, limitando la precisión del método.

Las técnicas que utilizan llamas tienen ciertas limitaciones como por ejemplo que en el proceso inicial cuando se forma el aerosol fino, las gotas gruesas se descartan, por lo que se está perdiendo muestra. Como consecuencia de esto la cantidad de muestra que llega a la zona de nebulización hace que los límites de detección de estas técnicas sean bastante altos. Es por esto que estas técnicas son útiles para determinaciones a niveles de concentración de ppm (partes por millón) (Skoog et al., 2008).

1.3.2.b.2. Espectrometría de emisión atómica óptica mediante plasma inducido por microondas (MIP-OES)

Debido a que cada vez se necesitan procesar más cantidad de muestras en el menor tiempo posible, se han desarrollado las técnicas de espectrometría de emisión atómica con fuente de plasma que son de análisis multielemento y casi simultáneas. Entre las ventajas inherentes a estas técnicas cabe mencionar las pocas interferencias químicas vinculado a las altas temperaturas que alcanza el plasma

en la zona analítica, no se forman compuestos refractarios ya que se destruyen. Poseen amplio rango lineal, lo cual es muy práctico a nivel experimental ya que no se necesita realizar una gran cantidad de diluciones como en otras técnicas para analizar compuestos mayoritarios, minoritarios y en trazas presentes en la muestra, pudiendo establecer la linealidad en todos ellos.

Entre otras ventajas de los métodos analíticos basados en la espectroscopía atómica se encuentra el hecho de ser específicos, tienen amplio rango de aplicación, una excelente sensibilidad, rapidez y conveniencia.

Para obtener los espectros atómicos, los componentes de la muestra deben convertirse en átomos o iones en estado gaseoso mediante un proceso denominado atomización. Existen distintos tipos de atomizadores usados en espectroscopía de emisión atómica, entre los que se pueden mencionar: llama, vaporización electrotérmica, plasma de acoplamiento inductivo argón (ICP), plasma inducido por microondas (MIP), arco eléctrico, chispa eléctrica.

Un plasma es una mezcla gaseosa confinada en un lugar del espacio, conductora de la electricidad que contiene una concentración significativa de cationes y electrones cuya carga neta es cero. Existen tres tipos de plasma: de acoplamiento inductivo (ICP), de corriente continua (DCP) y plasma inducido por microondas (MIP). En espectrometría de emisión atómica con plasma inducido por microondas, el plasma se genera mediante inducción por microondas y se utiliza nitrógeno obtenido mediante el uso de un compresor y aire comprimido, por lo que es mucho más económico que un plasma de Ar como el clásico ICP ampliamente utilizado en análisis multielemento.

Debido a que este plasma alcanza menores temperaturas que el de argón, no se genera tan eficientemente el proceso de atomización/ionización. .

El plasma se utiliza para desolvatar, atomizar y excitar los átomos de la muestra líquida que se han nebulizado en ella. Es considerablemente más caliente que la llama de aire acetileno.

La intensidad de la luz emitida es medida mediante detección óptica en las longitudes características de los elementos de interés.

Como ventajas del uso de esta técnica cabe mencionar que es seguro (no utiliza gas inflamable como el acetileno), tiene bajos costos de operación, ya que el utiliza nitrógeno. No se requieren lámparas para el análisis. Identifica y cuantifica numerosos metales. Para las mediciones se introduce la muestra en aerosol en el plasma de nitrógeno mediante el uso de una bomba peristáltica y posterior nebulización. La emisión axial procedente del plasma de nitrógeno mide mediante un monocromador

de barrido rápido y las emisiones específicas de la longitud de onda se detectan mediante un CCD (Charge-coupled device) de alta eficacia (Skoog et al., 2008).

1.3.3. Validación

La validación es el proceso mediante el cual se demuestra que el método o procedimiento analítico empleado para cierto ensayo es apropiado para el fin para el cual es destinado. Consta de una serie de etapas donde se verifican varios parámetros de desempeño. El propósito de la validación es demostrar que se utilizan métodos confiables y reproducibles. Existen diferentes guías que describen las etapas de la validación, estas pueden diferir en cuanto a la cantidad de parámetros a controlar. No siempre es necesario controlar todos los parámetros, depende de la aplicación, no es imprescindible determinar el límite de detección para un analito mayoritario. Ejemplos de guías son AOAC, EPA, FDA, ICH, EURACHEM.

El método analítico debe estar normalizado antes de iniciar el proceso de validación, para lo cual se deben definir las condiciones operativas (equipos, reactivos, muestreos) y estandarizar el método encontrando las condiciones óptimas.

La calidad de una metodología analítica puede medirse mediante números denominados cifras de mérito. Es necesario verificar que una metodología brinda resultados confiables por lo que se tiene que poder demostrar la calidad del trabajo.

Algunos de los parámetros frecuentemente evaluados son exactitud, precisión de repetibilidad, precisión de reproducibilidad, precisión intermedia, selectividad, especificidad, recuperación, límite de detección, límite de cuantificación, veracidad, linealidad, robustez.

La exactitud se define como el grado de concordancia entre el resultado experimental y el valor de referencia aceptado (valor real). Puede calcularse como el porcentaje de analito recuperado o por la diferencia entre el valor obtenido y el valor real evaluado estadísticamente.

La precisión es el grado de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos en condiciones establecidas de una muestra homogénea y representativa. Se estudia en tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia, reproducibilidad. Se estima como una desviación estándar que puede expresarse en forma relativa o porcentual.

La precisión de repetibilidad establece la coincidencia dentro de un periodo corto de tiempo para el mismo analista con la misma instrumentación en la medición utilizando la misma muestra. La precisión intermedia a diferencia de la anterior, estudia la dispersión en la medición obtenida determinada en

tiempos diferentes (días, semanas) variando las condiciones (equipos, analistas) en el mismo laboratorio. La reproducibilidad establece la coincidencia en los resultados obtenidos en diferentes laboratorios (estudio colaborativo).

La precisión intermedia es la precisión en condiciones donde los resultados de un ensayo se obtienen con el mismo método, sobre una misma muestra, durante un periodo de tiempo prolongado.

Límite de detección (LD) es la concentración mínima del analito que puede ser determinada cuantitativamente con una precisión y veracidad adecuada.

Límite de cuantificación (LC) se define como la mínima concentración o masa del analito que puede ser cuantificada con una exactitud y precisión adecuada. Para la estimación del LD y LC existen diferentes aproximaciones, una de las más utilizadas es la relación señal-ruido (S/N , *signal-noise*). De esta forma se considera que el LD se corresponde con la concentración del analito que presenta una relación señal-ruido mayor o igual a 3 y el LC se corresponde con la concentración del analito para la cual se observa una relación señal-ruido mayor o igual a 10.

$$LD = \frac{3\sigma_b}{m} \quad LC = \frac{10\sigma_b}{m}$$

donde σ_b es la desviación estándar de la respuesta del blanco.

m es la pendiente de la curva de calibración para linealidad.

Veracidad, se define como el grado de concordancia entre el valor promedio esperado y el valor de referencia aceptado (valor real).

Linealidad es la habilidad del método analítico de obtener resultados experimentales (en un determinado rango) proporcionales a la concentración del analito, ya sea directamente o por medio de una transformación matemática bien definida

El intervalo de un método analítico es el rango entre los niveles superior e inferior del analito (incluidos los extremos) en el cual se asegura la linealidad con un nivel adecuado de precisión y exactitud.

Los criterios de aceptación deben equilibrar el rigor científico con las limitaciones prácticas (Skoog et al., 2008).

1.4. Justificación

Si bien existen trabajos de investigación publicados que informan sobre el contenido de oligoelementos en carne bovina cruda (a nivel nacional e internacional), hasta el momento muy pocos reportan los porcentajes de pérdida o retención de oligoelementos según los diferentes puntos de cocción.

Puesto que no se ha encontrado hasta el momento trabajos que investiguen la influencia del grado de cocción en los niveles de los mismos en Uruguay, se consideró relevante realizar un estudio que evaluara la pérdida o ganancia de Fe, Cu, Zn y Fe Hemo en carnes nacionales sometidas a un proceso de cocción seca (utilizado comúnmente en nuestro país).

La información obtenida en este trabajo generará nuevo conocimiento sobre el valor nutricional de un alimento de consumo elevado en nuestro país según su grado de cocción, relevante tanto para profesionales de la salud, chefs como también público en general. Conocer la calidad nutricional de la carne bovina de Uruguay permite orientar a los consumidores sobre la forma de elaboración de este alimento para optimizar sus propiedades alimenticias.

Este trabajo presentó como propuesta el desarrollo analítico y la preparación de matrices complejas (digestión de muestras de origen animal) para el análisis de diferentes elementos y la evaluación de los porcentajes de retención de los mismos en dos puntos de cocción. Se propuso también estudiar la disponibilidad de hierro en carnes cocidas en diferentes grados y evaluar la calidad de este alimento en la forma que se consume.

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS DE LA TESIS

2.1. Objetivo general

Estudiar la variación en la retención de Fe total, Cu y Zn en tres cortes de carne vacuna de consumo popular en Uruguay según su modo de cocción y la variación de los niveles de Fe-hemo según el punto de cocción.

2.1.1. Objetivos específicos

- Optimización y validación de las determinaciones analíticas de Fe total, Fe-hemo, Cu y Zn en las muestras de carne cruda, poco cocida y muy cocida.
- Evaluar la variación de porcentaje de retención de Cu, Fe y Zn en la carne vacuna según el tipo de corte (asado, bola de lomo y cuadril) en dos puntos de cocción (poco cocido y bien cocido).
- Estudio de la variación de los niveles de Fe-hemo según el punto de cocción.

CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS

Los trabajos se desarrollaron en los Laboratorios del Área de Química Analítica (GATPREM, Grupo de Análisis de Elementos Traza y Desarrollo de Estrategias Simples para Preparación de Muestras, Departamento Estrella Campos, DEC) y en Laboratorios de Análisis de Alimentos (Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CYTAL), ambos ubicados en Facultad de Química, UDELAR.

3.1. Muestras de carne vacuna

En la Facultad de Química, se recibieron 120 muestras de carne bovina (de 500 g aproximadamente) provistas por INAC, etiquetadas, codificadas y envasadas al vacío (Figura 8) provenientes de 40 animales del territorio nacional, con 36 horas de maduración sanitaria, dispuestos en 8 muestreos de 5 animales cada uno. De los cuales 20 fueron terminados a base de pasturas mientras que los otros 20 lo hicieron mediante ración. Con respecto a las razas de los vacunos estudiados, INAC informó que 17 de ellos fueron Hereford (7 terminados con pastura y 10 a ración) mientras que 12 correspondieron a Aberdeen Angus (7 terminados con pastura y 5 a ración). De los restantes 1 fue Brangus.

Los códigos de cada muestra permitieron corroborar la correspondencia entre la carne bovina y los datos pertenecientes a cada animal, mediante el Sistema Electrónico de Información de la Industria Cárnica (SEIIC) y el Sistema Nacional de Información Ganadera (SNIG), que garantizaron la trazabilidad del proceso.



Figura 7. Mapa político de Uruguay con la cantidad de animales analizados en el presente estudio según su procedencia y terminación.

En la Figura 7 se señala con verde los departamentos de Paysandú, Florida, Durazno, Lavalleja, Rocha y Canelones de donde provinieron para el presente trabajo los animales que fueron terminados con pastura, también se señala la cantidad de los mismos por departamento. Mientras que en amarillo se presentan los departamentos de Cerro Largo, Río Negro y Soriano, desde donde provinieron los animales terminados a grano.



Figura 8. Recepción de las muestras de carne vacuna.

De cada animal se analizaron tres cortes diferentes estructuralmente de consumo habitual en el Uruguay. El asado, corte con hueso delantero, correspondiente a la parrilla costal, popular por ser el más difundido en el país y dos cortes traseros sin hueso que fueron cuadril (*Bíceps Femoral*) y bola de lomo (músculo muestreado fue *Vastus Intermedius*).

3.1.1 Recepción y acondicionamiento de muestras

En cada muestreo se recibieron 15 muestras correspondientes a los 3 cortes de 5 animales (Figura 8, imágenes 01 y 02). Cada una de ellas envasada al vacío presentando un rótulo con su correspondiente identificación para mantener su trazabilidad (Figura 8, imagen 03, 04 y 05).

En el laboratorio, cada muestra fue retirada de su envase (Figura 9, imagen 01), se despojó del tejido óseo y adiposo visible (Figura 9, imagen 02) mediante la utilización de un cuchillo de acero inoxidable (código de aleación: 440C). Posteriormente se dividió en tres porciones de aproximadamente 100 gramos (Figura 9, imágenes 03 y 06), dos de las cuales se reservaron en sus envases rotulados para su posterior cocción y uno se conservó crudo. Se registró la masa de las porciones obtenidas (Figura 9, imágenes 04 y 05).

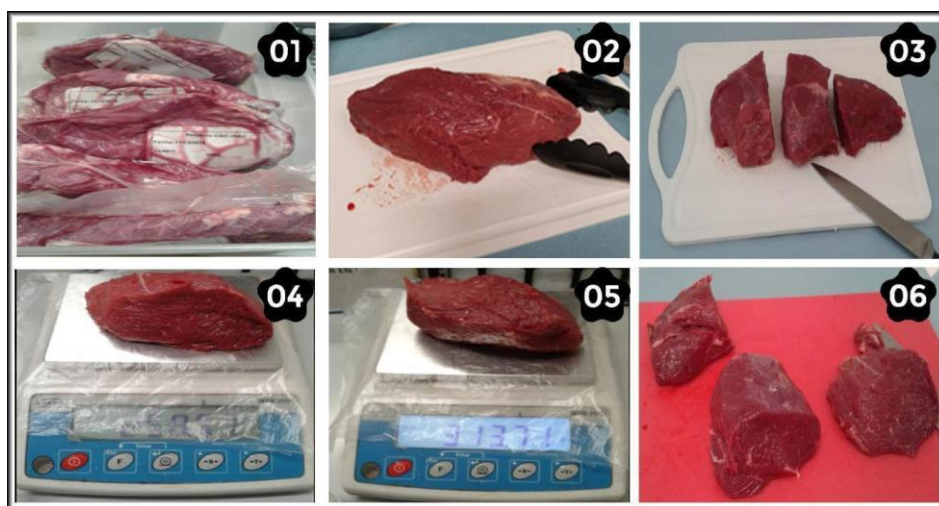


Figura 9. Acondicionamiento de las muestras.



Figura 10. Procesado de muestras.

Cada muestra se conservó con su envase y rótulo correspondiente (Figura 10, imágenes 01, 02, 04). La porción de muestra cruda reservada se trituró y homogeneizó con molino de cuchillas de acero inoxidable 440C (Figura 10, imagen 03), mientras que a las otras dos porciones de la misma se les realizó una cocción en dos puntos diferentes establecidos previamente como “poco cocido” (Figura 10, imagen 05) y “muy cocido” (Figura 10, imagen 06).

Las porciones crudas y cocidas (correspondientes al mismo corte) fueron trituradas y homogeneizadas mediante el uso de un molino de cuchillas de acero inoxidable. La carne molida resultante fue envasada en tubos de polipropileno debidamente descontaminados e identificados y se conservaron en freezer a -18°C hasta el momento de su análisis.

Los tubos de polipropileno utilizados durante el trabajo fueron descontaminados en relación a la presencia potencial de trazas de metales. Dicha descontaminación consistió en sumergir durante toda

la noche los tubos limpios en HNO₃ 10% (v/v) (Merck pa, Darmstadt, Alemania), luego se enjuagaron 3 veces con agua desionizada y 3 veces con agua ultrapura de calidad I según norma ASTM.

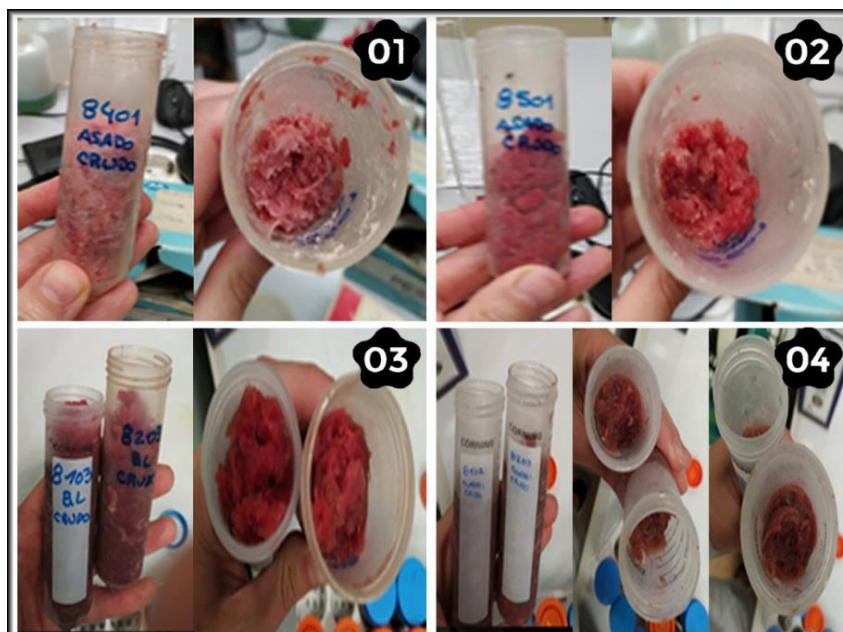


Figura 11. Envasado de muestras de carne molida cruda en tubos de polipropileno.

En la Figura 11, se observan las muestras de asado (imágenes 01 y 02), cuadril (imagen 04) y bola de lomo (imagen 03) trituradas, homogeneizadas y colocadas dentro de tubos de polipropileno adecuadamente rotulados respetando la trazabilidad. Puede apreciarse la diferencia en el contenido graso intramuscular entre los cortes y dentro del mismo corte asado entre dos animales diferentes (Figura 11, imágenes 01 y 02).

3.1.2 Método de cocción

En el presente proyecto se trabajó en dos puntos (o grados) de cocción en cada muestra, que fueron establecidos evaluando la pérdida de masa luego de ser cocinada con respecto a la misma cruda. Para monitorear la temperatura de las muestras de carne durante el proceso de cocción, se introdujo una termocupla de pincho en el centro de los cortes. Este proceso de medición puede observarse en la secuencia de imágenes de 01 a 06 en la Figura 12. La utilización de este instrumento fue de gran importancia para la sistematización del proceso.

Estos dos puntos que se han denominado poco y muy hecho, están dentro del rango de cocción recomendado por la USDA para evitar enfermedades de transmisión alimentaria, y garantizar la seguridad del producto; buscando simular una cocción habitual en los hogares de los consumidores pero sistematizando el proceso (USDA, 2006).



Figura 12. Cocciones en Instalaciones del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CyTAL).

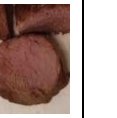
En la tabla 12 se resumen las condiciones (tanto en plancha como en horno) de temperatura interna de los cortes, tiempos de cocción (según el corte para ambos puntos) y el aspecto resultante luego de las cocciones.

Las variables temperatura interna de los cortes y tiempos de cocción se optimizaron buscando simular un proceso de cocción habitual en los hogares de los consumidores aportando el rigor científico de la sistematización y el control (dentro de los límites naturales de los instrumentos y procesos) de forma simple. Para no introducir variabilidades entre los cortes y poder compararlos, se le realizó el mismo proceso de cocción a todas las muestras.

Para las cocciones de las muestras de carne se contó con la colaboración del Prof. Chef Marcelo Cereminara (IMERL, Facultad de Ingeniería; DMMCC, Facultad de Ciencias Económicas, UDELAR, Montevideo, Uruguay), bajo la supervisión de los orientadores del presente trabajo: Dra. Mariela Pistón y Dr. Luis Panizzolo, en las instalaciones del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CyTAL).

Las dos porciones reservadas de cada muestra fueron sometidas a un proceso de cocción consistente en un sellado en plancha eléctrica con recubrimiento antiadherente Teflon® (Ufesa, modelo GR7451) a 300°C, hasta alcanzar una temperatura prefijada en el centro del corte (Tabla 12), la cual fue controlada mediante el uso de una sonda de temperatura (ThermaQ) (Figura 12, imágenes 04, 05, 06). Posteriormente se colocaron en una asadera para terminar su cocción en horno eléctrico (Delne, modelo Te-5604 i) a 200°C, hasta que el centro de estas alcanzaron la temperatura prefijada. (Tabla 12).

Tabla 12. Condiciones de tiempos y temperaturas para los grados de cocción utilizados en los tres cortes de carne vacuna.

	CORTE					
	ASADO		CUADRIL		BOLA DE LOMO	
Punto de cocción	PC*	MC**	PC*	MC**	PC*	MC**
Tiempo en plancha (min)	4	8	8	12	7	12
Temperatura en el centro de la muestra al finalizar sellado (°C)	50	74	24	26	34	38
Tiempo en el horno (min)	5	14	12	28	11	32
Temperatura en el centro de la muestra al salir del horno (°C)	75	98	53	83	64	82
Tiempo total de cocción (min)	9	22	20	40	18	44
Aspecto de las muestras cocinadas						

PC*: Poco cocido. Denominación utilizada en el presente trabajo para referirse al menor grado de cocción utilizado para las muestras.

MC:** Muy cocido. Con esta denominación se distinguió en este estudio al grado de cocción más avanzado que se utilizó para las muestras trabajadas.

Debido a que al retirar la muestra de la fuente de calor, la temperatura continúa aumentando 2 o 3°C, se realizó un abatimiento de las mismas (enfriamiento rápido mediante el uso de un baño de hielo) para detener la cocción (INAC, 2006). Para ello, luego de ser retiradas del horno, se colocaron en su respectivo envase hermético con su correspondiente identificación, y se disminuyó rápidamente su temperatura mediante su introducción en un baño de hielo.

Para determinar la pérdida de masa debida a la cocción, se pesaron las muestras de cada corte crudo (asado, cuadril y bola de lomo) y luego de la cocción. Esto se tomó como medida del grado de cocción.

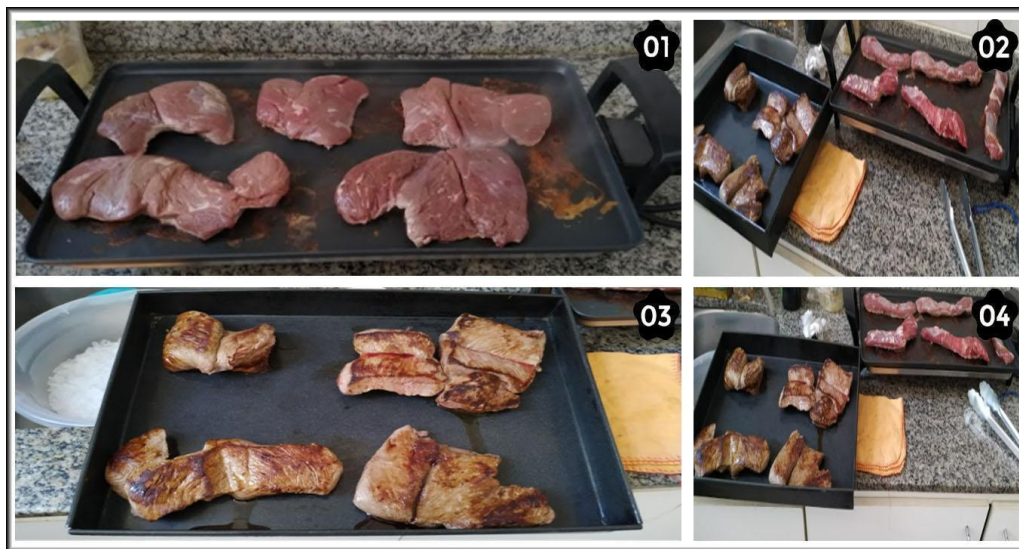


Figura 13. Asado antes (01) y luego del sellado en la plancha (02, 03).

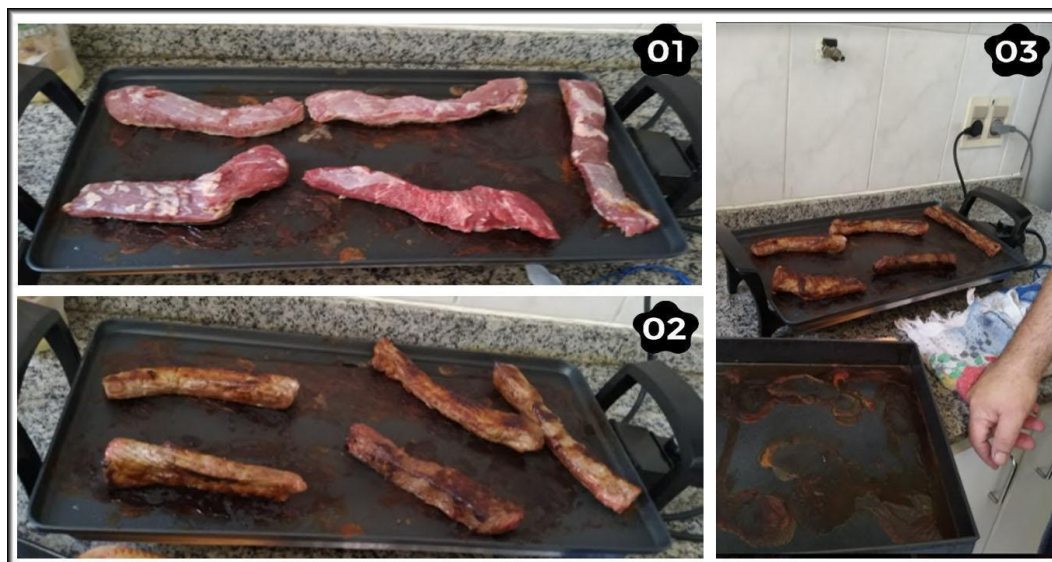


Figura 14. Cortes antes y después del sellado en plancha.

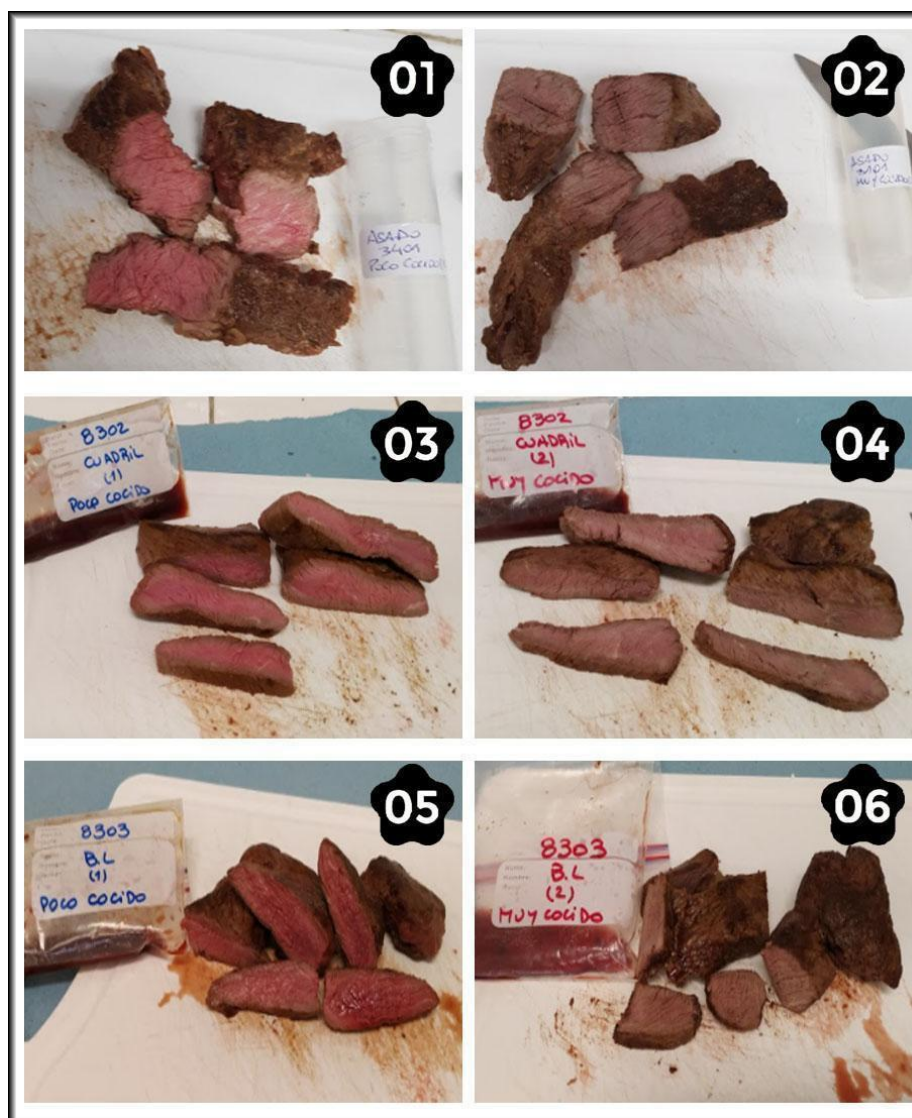


Figura 15. Imágenes de los cortes Asado, Cuadril y Bola de lomo) en los dos grados de cocción estudiados.

En la Figura 15, a la izquierda se presentan las muestras asado (01), cuadril (03) y bola de lomo (05) poco cocidas. Mientras que a la derecha se observan las muestras muy cocidas de asado (02), cuadril (04) y bola de lomo (06). A las muestras no se les agregó sal, aceite ni condimentos.

3.2 Reactivos, instrumentación e instalaciones

3.2.1 Reactivos

Todos los materiales utilizados se descontaminaron previamente a su uso utilizando una disolución de HNO_3 10% (v/v) (Merck pa, Darmstadt, Alemania).

Los estándares de calibración para Cu, Fe y Zn, se realizaron mediante diluciones de una solución comercial multielemento para absorción atómica de concentración 1000 mg L⁻¹ (Standard Certipur, N° lote: 1.11355.0100, Merck, Alemania).

Se utilizó agua calidad I según norma ASTM (resistividad no menor a 18,2 MΩ cm) obtenida de un sistema de purificación de agua Millipore® (Productor de agua ultrapura Millipore Simplicity 185. Direct Q3-UV Millipore, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).

La digestión de las muestras se realizó con HNO₃ (4,5 mol L⁻¹). El ácido se obtuvo mediante un proceso de destilación sub-boiling (Milestone, Sorisole, Italia) a partir de ácido comercial. Todos los demás reactivos utilizados fueron de calidad para análisis o superior.

Se utilizó material de referencia certificado (CRM) de músculo bovino ERM-BB 184 (provisto por el Institute for Reference Materials and Measurements, Comisión Europea) para evaluar la veracidad de las determinaciones analíticas de Cu, Fe y Zn. Los valores certificados del material utilizado fueron: Cu: (2,31 ± 0,09) mg kg⁻¹, Zn: (146 ± 7) mg kg⁻¹, Fe: (75 ± 4) mg kg⁻¹ expresados en base seca.

3.2.2. Instrumentos

Se utilizaron Balanzas analíticas (Precisa XB-220A), Heladeras y Freezer para la conservación adecuada de las muestras, campanas de extracción para la manipulación adecuada de los reactivos y las diluciones.

Las muestras fueron secadas a 105°C en una estufa de laboratorio de convección natural, de intervalo de temperatura: 30-250°C, capacidad 32L; utilizando desecadores gel para el mantenimiento de estas.

Para el tratamiento de muestras, se utilizó un Digestor asistido por microondas (CEM, Mars 6) equipado con 12 vasos de reacción Easy Prep Plus®. Potencia 400-1800 W. Las mismas se realizaron con HNO₃ (4,5 mol L⁻¹) destilado obtenido a partir de ácido concentrado de calidad para análisis (67%, v/v, Merck, Alemania).

Se realizaron las determinaciones de Fe, Cu y Zn mediante un Equipo de Espectrometría de Absorción Atómica de Llama AAnalyst 200 Perkin Elmer Precisely para los cuatro primeros muestreos (20 animales). Se utilizaron lámparas de cátodo hueco construidas con los elementos correspondientes del analito a determinar, como fuentes de líneas atómicas (para Zn: lámpara Perkin Elmer Precisely; para Cu: lámpara Photron, para Fe: lámpara Photron).

Si bien las determinaciones de los elementos comenzaron a realizarse en el Espectrómetro de Absorción atómica de llama, el Área Química Analítica adquirió un Espectrómetro de emisión atómica con plasma inducido por microondas (Agilent 4210 MIP OES) equipado con un muestreador automático modelo SPS 4 (Agilent Technologies, Santa Clara, EE.UU). Un nebulizador inerte One Neb con un sistema de cámara de nebulización ciclónica de vidrio y una antorcha estándar. El espectrómetro utilizó un generador de nitrógeno en línea modelo 4107 (Agilent Technologies, Santa Clara EE.UU), que toma aire del ambiente a través de un compresor de aire modelo KK70 TA-200 K (Dürr Technik, Bietigheim-Bissingen, Alemania), que al ser un equipo multielemento facilitó el análisis por lo cual se continuó utilizando el mismo en el resto del trabajo (muestreros 5 al 8, 20 animales).

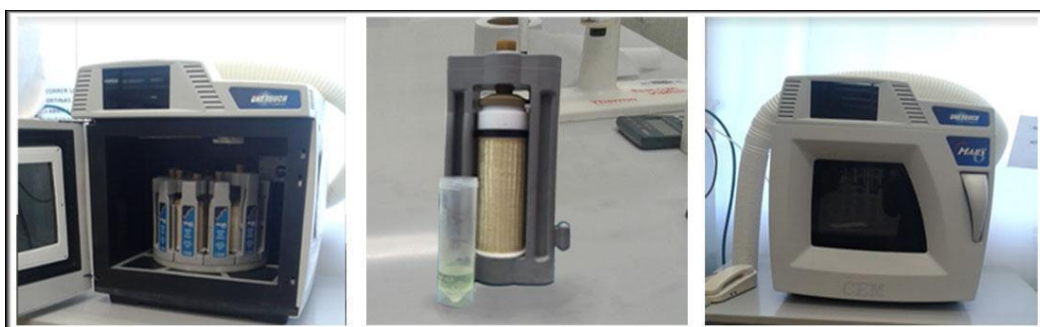


Figura 16. Digestor de microondas (CEM, Mars 6).



Figura 17. Equipo Espectrometría Absorción Atómica de Llama (AAAnalyst 200 Perkin Elmer)



Figura 18. Equipo de Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Inducido por Microondas. (Agilent 4210 MIP OES)

3.3. Determinación de humedad de muestras de carne

La carne contiene aproximadamente entre un 70 y 75% de agua, de la cual el 70% es agua libre que se encuentra entre los espacios de los filamentos de actina y miosina. El otro 5% es agua ligada a proteínas. Cuando se hace la determinación de humedad principalmente lo que se determina es el agua libre. El análisis de contenido de humedad o de materia seca, permite conocer el grado de dilución de los nutrientes o componentes de la muestra (Bradley, 2003).

A diferencia de las determinaciones de capacidad de retención de agua y pérdida por goteo, el análisis de humedad se basa en la pérdida de agua por efecto del calentamiento en estufa. Existen diferentes métodos para la determinación de humedad: basados en el calentamiento con microondas o rayos infrarrojos, métodos no destructivos y rápidos basados en espectroscopía de infrarrojo cercano y la resonancia magnética nuclear (Bradley, 2003; Rui Rogers, 2001).

En este trabajo se tomaron las muestras trituradas (tanto crudas como cocidas) y se secaron según el método oficial de la AOAC 950.46 (AOAC, 2005). El mismo consistió en colocar en estufa 5 g. de cada muestra de carne vacuna por duplicado en vidrios reloj limpios y secos identificados adecuadamente (Figura 19, imágenes 01, 02, 03) para respetar la trazabilidad de las mismas, a 105°C entre 15 y 18 horas hasta obtener un peso constante de las mismas, esto se consideró cuando dos pesadas sucesivas no difirieron en más de 0,01g. De esta manera se obtuvo el producto seco y el contenido de humedad de las muestras. (Figura 19, imágenes 04, 05)

Las muestras fueron secadas a 105°C en una estufa de laboratorio de convección natural, de intervalo de temperatura: 30-250°C, capacidad 32L; utilizando desecadores con sílica gel para el mantenimiento de las mismas.

Las muestras secas obtenidas fueron trituradas con molino de cuchillas de acero inoxidable para obtener un polvo fino. (Figura 19, imagen 06)

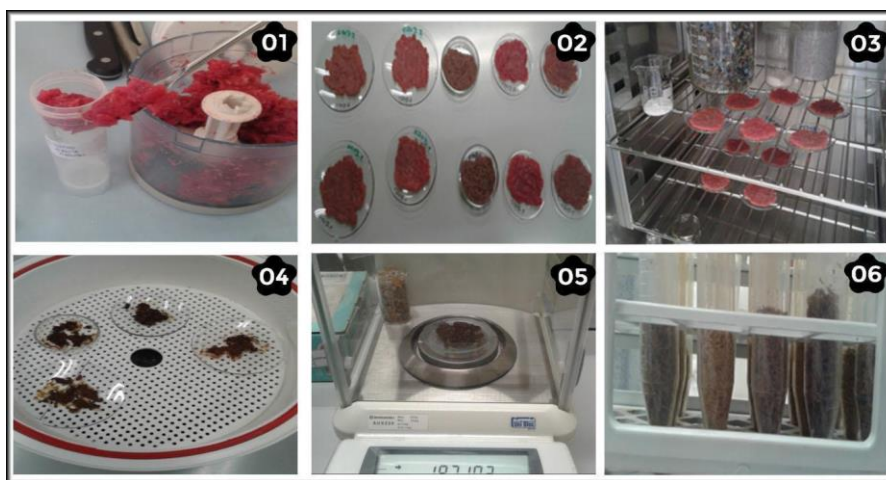


Figura 19. Secado de las muestras.

3.4. Preparación de muestras para las determinaciones analíticas de Fe, Cu y Zn

Los oligoelementos en los alimentos se pueden determinar utilizando varios métodos. En el presente trabajo se realizó una digestión asistida por microondas con ácido diluido y la posterior utilización de técnicas de espectrometría atómica.

La utilización de ácidos diluidos y condiciones no tan drásticas promueven los principios de la Química Verde (Diaconescu et al., 2013; Higuera et al., 2019; de Higuera et al., 2020d). El grupo de investigación GATPREM contaba con antecedentes del uso de ácido diluido para digestión de otras muestras complejas (Machado et al., 2016).

3.4.1. Método de digestión asistido con microondas (MW)

El tratamiento de las muestras desarrollado ya sea para carne cruda o cocida, consistió en una digestión asistida por microondas de 0,5 g de muestra (seca y molida) con 10 mL de HNO₃ diluido (4,5 mol L⁻¹). El programa de digestión utilizado fue: 15 minutos de calentamiento a 200°C, mantenimiento durante 15 minutos a dicha temperatura y enfriamiento posterior hasta temperatura ambiente.

El digesto obtenido se trata posteriormente de forma de obtener los elementos en concentraciones adecuadas (puesta a escala) para la detección mediante técnicas de absorción atómica.

Las muestras se analizaron por duplicado (excepto en los ensayos de validación y optimización donde se realizaron más réplicas según se describirá en los resultados). Paralelamente se realizaron análisis de blancos de reactivos.

Las condiciones de trabajo iniciales (concentración de ácido nítrico, programa de temperatura del digestor por microondas, tiempo) se optimizaron y validaron mediante el uso de un material de referencia certificado de músculo bovino.

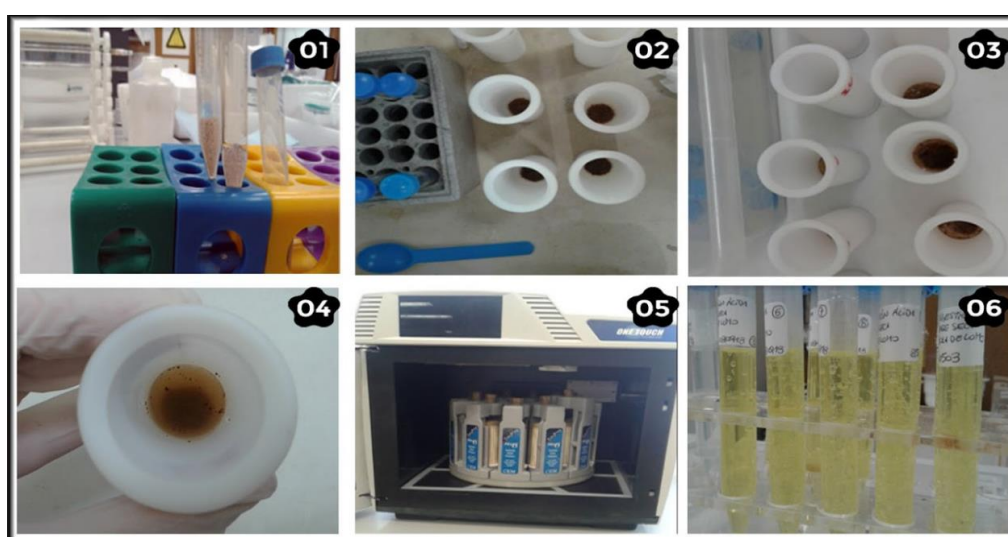


Figura 20. Digestión de muestras de carne vacuna cruda y cocida.

En la Figura 20 se esquematiza la secuencia de pasos en el proceso de digestión utilizado. Las muestras secas molidas (01) se pesan dentro de los vasos de digestión (02, 03), se agrega ácido nítrico diluido (04), y luego se cierran los vasos Easy Prep Plus para digerirse en MW (05). Se observa el digesto resultante (06).

3.5. Determinaciones analíticas de Fe, Cu y Zn en muestras de carne cruda y cocida mediante Espectrometría de Absorción Atómica de Llama (FAAS)

Se realizaron determinaciones de Fe, Cu y Zn mediante Espectrometría de Absorción Atómica de Llama (FAAS), en primera instancia en los primeros 4 muestreos, en un total de 20 animales bajo las condiciones operativas se detallan en la tabla adjunta (Tabla 13).

Esta técnica es muy empleada para la determinación de metales en una amplia variedad de matrices. La disolución de la muestra es nebulizada mediante un flujo de gas oxidante (Aire) mezclado con gas combustible (acetileno) y se transforma en una llama de flujo laminar donde se produce la atomización.

Para tener la certeza que la medida analítica sea debida solamente al analito y no a otro tipo de interferencias, es necesario una confirmación de identidad del analito. Para ello se utilizó un material de referencia certificado de músculo bovino (ERM-BB-184), para evaluar la veracidad de los resultados analíticos obtenidos.

Se realizó el análisis de blancos para garantizar que la medida no se encontraba modificada por errores durante la manipulación de la muestra.

Mediante diluciones de solución stock patrón multielemento de 1000 mg L⁻¹ (Standard Certipur N° lote: 1.11355.0100 Merck Germany), se realizaron curvas de calibración para cuantificar Fe, Cu y Zn.

Todas las muestras fueron analizadas por duplicado.

Tabla 13. Condiciones operativas de las (AOAC 950.45).de hierro, cobre y cinc mediante espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS).

	Hierro (Fe)	Cobre (Cu)	Cinc (Zn)
Lámpara de cátodo hueco	Photron	Photron	Perkin Elmer Precisely
Longitud de onda (nm)	248,33	324,75	213,86
Intensidad (mA)	20	20	20
Rango lineal (mg L ⁻¹)	hasta 2,0	hasta 2,0	hasta 1,0
Tiempo de integración (segundos)	2	1	2
Réplicas instrumentales	3	3	3
Tiempo de retraso de lectura (segundos)	2	1	2

3.5.1. Validación

Luego de encontrar las condiciones operativas óptimas según la tabla 13, se procedió a la validación analítica. En esta etapa se determinaron los principales parámetros de desempeño del método

(linealidad, límites de detección y cuantificación, precisión y veracidad) siguiendo las recomendaciones de la Guía Europea de validación Eurachem (Magnusson et al., 2014).

La precisión fue evaluada analizando un material de Referencia certificado de músculo bovino (ERM-BB 184) expresada como RSD (%). Para los niveles de concentración de trabajo se consideró como una especificación válida un $RSD < 10$ como un criterio de buena precisión del método.

Para el estudio de veracidad de las determinaciones analíticas se comparó el valor de Cu, Fe y Zn obtenido al tratar mediante este método el material de Referencia certificado de músculo bovino (ERM – BB 184) con su respectivo valor certificado, expresando el resultado de esta evaluación como porcentaje de recuperación (R%). La especificación válida se tomó dentro del rango 80-120 %, lo cual se consideró aceptable para evaluar el método en los niveles de concentración del trabajo.

Los límites de detección (LD) y cuantificación (LC), se estimaron para cada elemento como $3 s_b/m$ y $10 s_b/m$ respectivamente, donde s_b correspondió a la desviación estándar de las señales del blanco de reactivos y m fue la pendiente de la curva de calibración (Magnusson, et al., 2014).

Se realizó análisis de blancos de reactivos que fueron sometidos al mismo tratamiento que las muestras, pero en ausencia de las mismas. Esto garantiza que la medida no está modificada por errores durante la manipulación de la muestra.

3.6. Determinaciones analíticas de Fe, Cu y Zn en muestras de carne cruda y cocida mediante Espectrometría de Emisión Atómica mediante Plasma Inducido por Microondas (MIP-OES)

También se realizaron determinaciones de Fe, Cu y Zn mediante MIP-OES, en las condiciones operativas que se detallan en la tabla adjunta (Tabla 14) para los muestreos 5 al 8 (20 animales en total). Este instrumento se puso en marcha en el laboratorio cuando el proyecto ya estaba comenzado, por esta razón no todas las muestras se analizaron mediante esta técnica.

Tabla 14. Condiciones operativas de las determinaciones de hierro, cobre y cinc mediante Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Inducido por Microondas (MIP-OES).

Parámetro	Hierro (Fe)	Cobre (Cu)	Cinc (Zn)
Longitud de onda (nm)	248,33	324,75	213,86
Tiempo de lectura (s) (leído por triplicado)	3	3	3
Tiempo de estabilización del plasma con aspiración de la muestra (s)	10	10	10
Flujo de gas del plasma N ₂ (L min ⁻¹)	20	20	20
Flujo de gas auxiliar (L min ⁻¹)	1,5	1,5	1,5

Se utilizó corrección automática de fondo.

3.6.1. Validación

Para la evaluación de veracidad utilizando esta técnica también se utilizó el material de referencia certificado de músculo bovino ERM – BB 184.

Se realizaron ensayos de blancos como fue explicado anteriormente.

3.7. Determinación de Fe Hemo en muestras de carne cruda y cocida

El método espectrofotométrico empírico de Hornsey para la determinación de Fe hemo en carne, consiste en la extracción de los pigmentos (hematina) de la muestra empleando una solución de acetona al 80% acidificada para convertir mioglobina y hemoglobina en ácido hematínico. Para lograr la máxima extracción de color, se humedece la carne homogéneamente con una solución de acetona y agua cuyas proporciones son críticas, junto a la incorporación de HCl concentrado para obtener clorhidrato de cromatina, compuesto que tiene máximos de absorción a 512 y 640 nm. Luego se realiza un filtrado y la medición espectrofotométrica de la absorbancia del mismo a 640 nm.

Estas soluciones en acetona al 80% de hematina ácida se ajustan a la ley de Beer, obteniendo líneas rectas que pasan por el origen. Mediante este método se puede evaluar rápidamente los pigmentos totales expresados en partes por millón de hematina (Hornsey, 1956).

Para obtener el contenido de Fe Hemo (mg kg^{-1}) se divide entre la masa pesada y se multiplica por un factor de 0,0882. Los factores utilizados provienen del trabajo de Hornsey donde $A_{640} = abC$, A_{640} es la absorbancia de la muestra, a es la absortividad, b el camino óptico (1 cm) y C la concentración de la solución absorbente (en mmol L^{-1}). La absortividad es una constante que depende de la longitud de onda y de la naturaleza de la sustancia y el peso fórmula (PF) del material absorbente. La absortividad milimolar ($\mathcal{E}$) es el producto de la absortividad y el peso fórmula, siendo 640 del Fe hemo, en acetona ácida, según condiciones de Hornsey $4,8 \text{ L cm}^{-1} \text{ mmol}^{-1}$. Considerando que se utilizan 2 g de muestra, 10 mL de disolvente (factor de dilución es 5) y que el PF de la hematina ácida es $652,2 \text{ g mol}^{-1}$. Si se sustituye C pigmentos totales (mg kg^{-1}) en la carne como hematina, $\text{hematina} = A_{640} \times 5 \times 652,24,8$, se obtiene que $C = A_{640} \times 680$ (estrictamente 679,17, pero se suele utilizar 680). El factor de 0,0882 surge de la relación $\text{PA Fe} (55,845 \text{ g mol}^{-1}) / \text{PF hematina} (633,49 \text{ g mol}^{-1})$. Así el Fe hemínico es calculado como: $\text{Fe hemínico} (\text{mg kg}^{-1}) = \text{pigmentos totales} \times 0,0882$.

El método desarrollado por Hornsey sigue siendo al día de hoy, el más reportado y recomendado por la UE para la determinación de Fe hemo en carnes (Hornsey, 1956; Lee et al., 1998; Lombardi-Boccia et al., 2002; Purchas et al., 2003; Pourkhalili et al., 2013; Pretorius et al., 2016; Boccard, 1981). Sin embargo en la descripción original y en la literatura no se describen detalles sobre la influencia de la agitación ni el tiempo de incubación, por lo que aparecen numerosos trabajos que mencionan realizar la determinación de Fe hemo según el “método Hornsey” pero con diferentes estrategias de agitación y tiempos de incubación diversos.

En el estudio de Lombardi-Boccia (2002) se realiza la optimización del método reportado por Hornsey (1956) mediante la utilización de muestras de carnes rojas italianas crudas y cocidas liofilizadas para el análisis de hierro hemo, reportan diferentes relaciones óptimas entre el contenido de HCl y masas de muestras. En el presente estudio se optó por utilizar la misma solución extractante tanto para muestras crudas como cocidas para no introducir más variables al proceso y de esta forma sistematizarlo.

Se buscó sistematizar la determinación de hierro hemo en carnes nacionales, ya que la literatura muestra diversas formas de proceder (utiliza muestras liofilizadas agregando una etapa de centrifugación posterior, agitación manual en lugar de mecánica) y para ello se realizó una optimización mediante un diseño experimental multivariado de tipo central compuesto de 2 variables

en 5 niveles (Massart et al., 1998). De esta forma se esperaba obtener las condiciones experimentales para la determinación de hierro-hemo (Fe-Hemo) con el fin de disminuir las variabilidades en el proceso. Las variables consideradas para la optimización fueron el tiempo de agitación y el tiempo de contacto entre la muestra y la solución extractante. Como resultado de esta etapa se divulgó parte del trabajo en una revista regional arbitrada (Bühl, et al, 2019).

En este trabajo se pesaron por duplicado en tubos de polipropileno forrados con papel aluminio protegidos de la luz (Figura 21, imágenes 03, 04, 05), 2,0000 g. de muestra de carne finamente picada (cruda o cocida según el caso) correspondiente al músculo bovino del corte utilizado (asado, cuadril y bola de lomo), al cual previamente se le retiró el tejido adiposo y óseo visible (Figura 21, imágenes 01 y 02, Figura 23, imagen 03). Se agregaron 10,00 mL de solución extractante de acetona ácida (acetona:agua:HCl concentrado en proporciones 90:8:2). Los tubos se taparon (Figura 21, imagen 06) y se colocaron en un agitador orbital (Daihan Sho-2D) a 200 rpm durante 40 segundos. A continuación se dejaron en contacto la muestra con la solución extractante durante 1 hora en oscuridad a temperatura ambiente. El sobrenadante resultante (Figura 23, imagen 01) donde se extrajo el pigmento separándolo de la carne sólida (Figura 22, imagen 06, Figura 23, imágenes 02, 04 y 05) se filtró mediante la utilización de papel Whatman N°2 (Figura 22, imágenes 01, 02, 03, 04, 05). Las determinaciones se realizaron en una celda de vidrio de 1cm de camino óptico a 640 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Hewlett Pacard 8453.

En la Figura 23 se observa en las imágenes la diferencia del color de la carne vacuna fresca antes (01, 03) y después de la extracción de pigmentos (02, 04, 05) mediante el uso de acetona ácida.

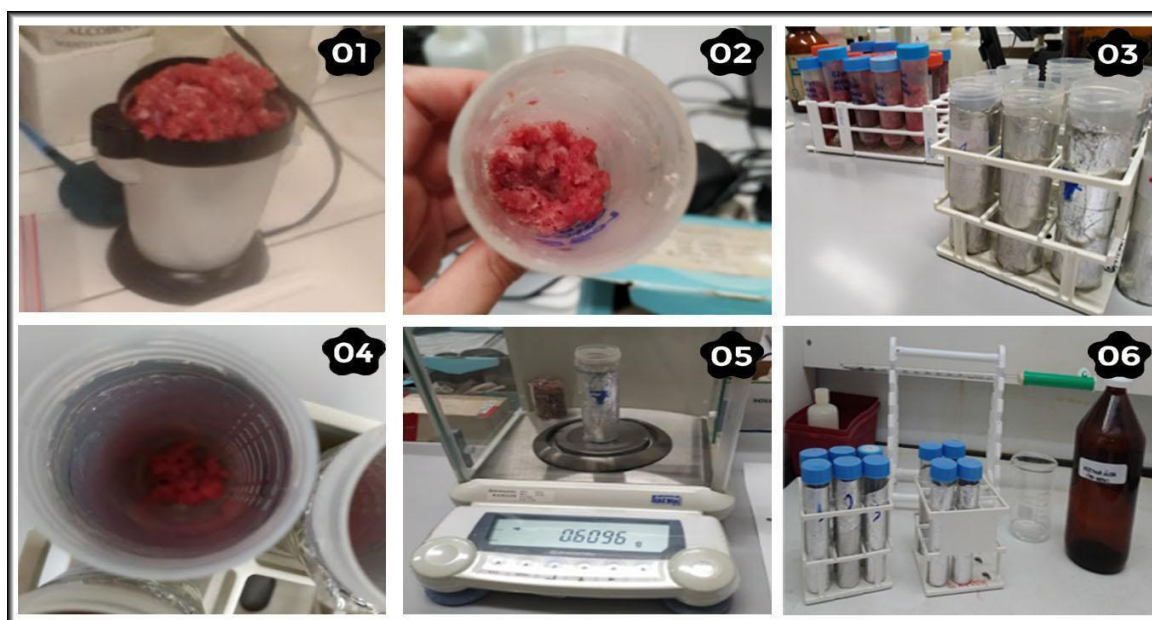


Figura 21. Proceso de determinación de Fe Hemo (Primera parte)

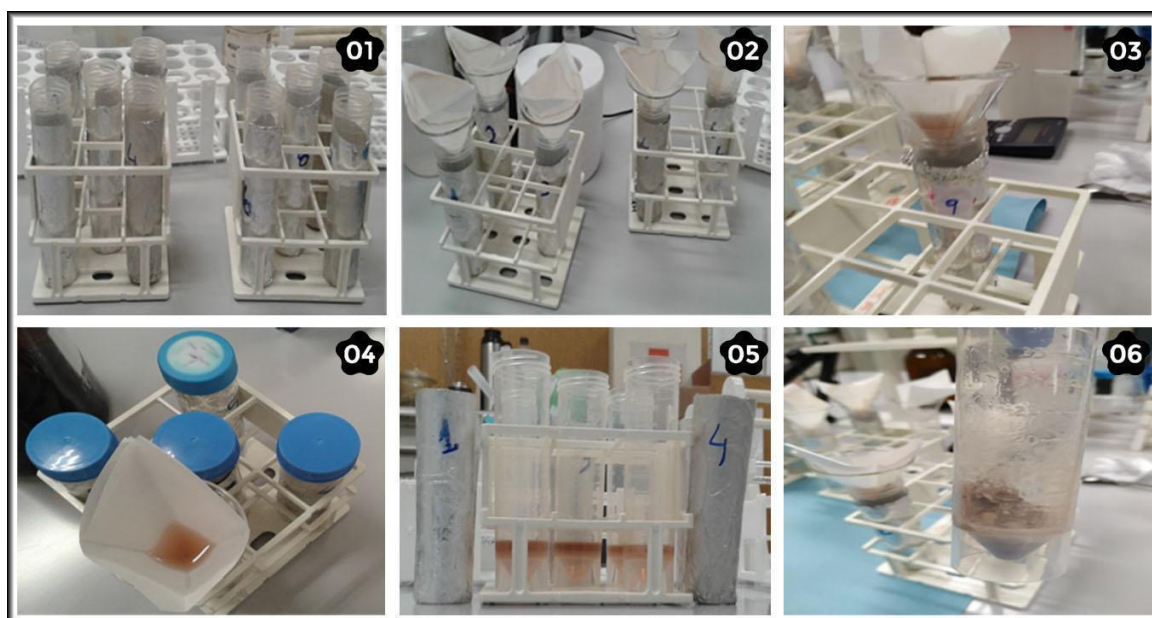


Figura 22. Proceso de determinación de Fe Hemo (segunda parte).

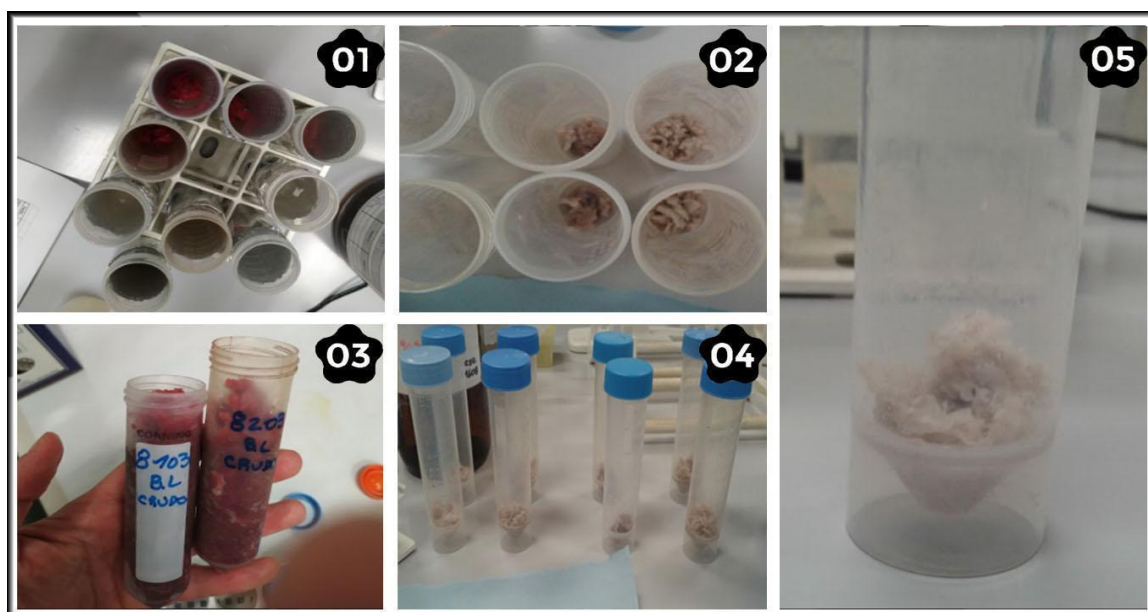


Figura 23. Proceso de determinación de Fe Hemo (tercera parte).

3.7.1. Validación

El método empírico de Hornsey que como ya se mencionó es el método más referenciado hoy en día (Hornsey, 1956; Lee et al., 1998; Lombardi-Boccia et al., 2002; Purchas et al., 2003; Pourkhalili et al., 2013; Pretorius et al., 2016), y también recomendado por la Unión Europea para la determinación de hierro hemo en carne vacuna. (Boccard et al., 1981, Anton, 2005).

Para la implementación del método en esta tesis, se seleccionaron las condiciones experimentales óptimas (60 minutos de tiempo de contacto entre la muestra y solución extractante y 40 segundos de

agitación mecánica) realizándose un diseño experimental como ya fue expuesto anteriormente (Bühl, et al, 2019).

Luego de seleccionadas las condiciones experimentales óptimas, se evaluó el desempeño del método en términos de precisión y linealidad.

Identificación y confirmación se realizó mediante la inspección visual de los espectros moleculares obtenidos.

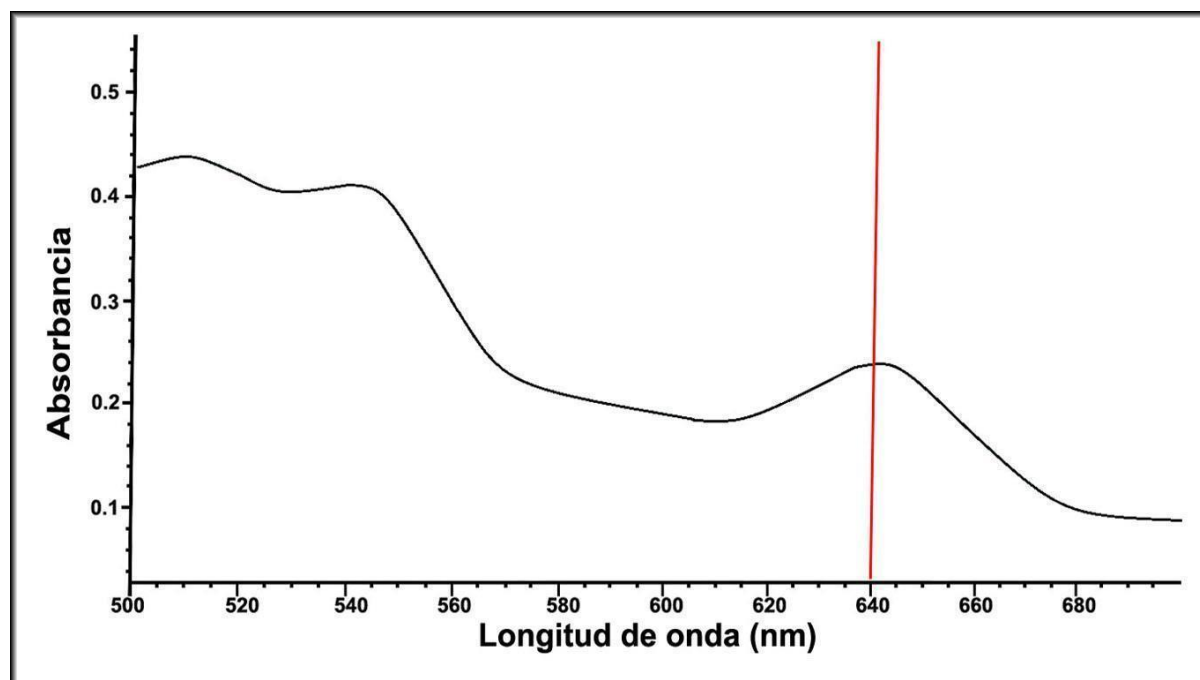


Figura 24. Espectro de Hierro Hemo.

La precisión expresada como RSD (%) fue estudiada utilizando las muestras de carne vacuna para describir que tan reproducibles son las mediciones; es decir, que tan semejantes son los resultados que se han obtenido exactamente de la misma manera.

El hierro hemo se cuantificó de la forma descrita en la metodología por duplicado durante dos días como una forma de evaluar la precisión y exactitud de la técnica.

Para comprobar si el método era veraz, se trabajó con curvas de calibración preparadas a partir de un patrón de hemina (51280 Sigma-Aldrich, BioXtra, from Porcine, $\geq 97.0\%$ (HPLC), Hemin(chloride)). Se compararon los resultados obtenidos mediante el método Hornsey optimizado y los obtenidos realizando una interpolación de las señales de absorbancia de las muestras en una función lineal de calibración utilizando hemina como patrón.

Se utilizó como blanco de reactivos la acetona ácida utilizada como solución extractante en el método de determinación de hierro hemo.

3.8. Determinación del porcentaje de retención.

Con el objetivo de evaluar cómo afecta el proceso de cocción aplicada a los cortes de carne vacuna estudiados, se determinó el porcentaje de retención del micronutriente luego de este proceso. Para lo cual se utilizó la ecuación descrita por Bognár y Piekarski (2000), que relaciona la pérdida de peso que sufre el corte luego de la cocción y la concentración del nutriente determinado antes y luego de dicha cocción (Bognár y Piekarski, 2000).

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación de Fe, Cu y Zn en muestras de carne cruda y cocida.

Durante el trabajo de tesis se realizaron las determinaciones de Cu, Fe y Zn en un total de 360 muestras de carne bovina (tres cortes crudos, poco y muy cocidos correspondientes a 40 animales). Los resultados se expresaron en base seca para facilitar las comparaciones entre cortes.

Como ya se mencionó en la sección 3.2.2, se comenzó con las determinaciones de los elementos mediante FAAS (muestreos 1 al 4, 20 animales) y luego de la adquisición por parte del Área Química Analítica de un MIP-OES se continuó utilizando el mismo (muestreos 5 al 8, 20 animales).

4.1.1. Optimización de las condiciones de digestión asistida por MW

El procedimiento utilizado de preparación de muestras mediante el uso de digestor asistido por microondas para carne vacuna cruda y cocida utilizando ácido diluido resultó muy eficaz. Se pudo reducir los desechos de residuos peligrosos, costos y tiempos. Las soluciones obtenidas luego de las digestiones asistidas por microondas fueron límpidas y no se requirieron más procedimientos excepto la dilución con agua ultrapura, antes del análisis instrumental. Éste método fue validado encontrándose que era adecuado para el objetivo del presente trabajo.

4.1.2. Determinaciones analíticas realizadas utilizando Espectrometría de Absorción atómica de llama (FAAS)

4.1.2.a. Validación

Luego de encontrar las condiciones operativas óptimas, para la preparación de las muestras según el método descrito en 3.4.1, se procedió a la validación analítica. En esta etapa se determinaron los principales parámetros de desempeño del método (linealidad, límites de detección y cuantificación, precisión y veracidad) siguiendo las recomendaciones de la Guía Europea de validación Eurachem (Magnusson et al., 2014).

Los Valores certificados del material utilizado fueron: Cu: $(2,31 \pm 0,09) \text{ mg kg}^{-1}$, Zn: $(146 \pm 7) \text{ mg kg}^{-1}$, Fe: $(75 \pm 4) \text{ mg kg}^{-1}$.

Tabla 15. Cifras de mérito obtenidas en FAAS

Parámetros de desempeño	Hierro (Fe)	Cobre (Cu)	Cinc (Zn)
Rango lineal (mg L ⁻¹), base seca	0,75-2,0	0,065-5,0	0,040-1,0
LD (mg kg ⁻¹), base seca	7,1	0,78	0,37
LC (mg kg ⁻¹), base seca	21	1,3	1,14
Veracidad (% R* respecto al valor certificado) promedio (n=6)	87,4	91,7	89,1
Precisión intermedia (RSD %, n=6)	5	10	5

% R*: porcentaje de recuperación.

El método analítico utilizado resultó adecuado para los fines propuestos, confirmando que el uso de HNO₃ diluido fue eficiente para la digestión de la matriz carne.

Como criterio de aceptación se estableció que los porcentajes de recuperación (% R) estuvieran en el rango 80-120%, pudiéndose observar en la tabla adjunta que la metodología resultó veraz. La precisión resultó adecuada con un % RSD menor o igual a 10.

Estos elementos estudiados se encuentran en la matriz carne en concentraciones bastante superiores a los límites de detección y cuantificación de esta técnica, por lo cual resulta adecuado.

Las cifras de mérito obtenidas resultaron adecuadas para evaluar de manera confiable los niveles de Fe, Cu y Zn en carne vacuna mediante un único método de extracción simultáneo y cuantitativo de preparación de muestras para los tres cortes estudiados crudos y cocidos.

4.1.3. Determinaciones analíticas realizadas utilizando MIP-OES

4.1.3.a. Validación

El método analítico también fue validado de acuerdo con las recomendaciones de la Guía Eurachem (Magnusson y Örnemark, 2014), evaluando los parámetros de desempeño linealidad, límites de detección y cuantificación, precisión y veracidad.

La validación se realizó mediante calibración directa, en los rangos de concentración estudiados. Para todas las funciones de calibración, el valor de R² fue superior a 0,998.

La linealidad se verificó en un rango adecuado para esta aplicación mediante la prueba de falta de ajuste (Miller y Miller, 2010). Para MIP-OES se reporta un rango de trabajo ya que la linealidad es muy amplia para los tres elementos (se informa en la Tabla 16 el rango dinámico de trabajo).

Se evaluó la precisión intermedia (promedio de diferentes días y con diferentes muestreos), utilizando muestras de carne y material de referencia certificado de músculo bovino (ERM BB.184). La desviación estándar relativa porcentual obtenida para todos los analitos en estudio fue aceptable, obteniéndose valores menores o iguales al 10% ($\% \text{RSD} < 10$).

En este caso para evaluar la veracidad, se llevó a cabo la prueba de Student's para comparar el porcentaje de recuperación después de analizar el Material de Referencia Certificado de músculo bovino ERM-BB 184 con el valor teórico ideal de recuperación, es decir 100%. Los valores de t experimentales estuvieron por debajo del valor t teórico. Por lo que con un nivel de confianza de 95% las recuperaciones obtenidas no difirieron significativamente del 100%, lo que garantiza la veracidad de esta metodología propuesta.

Como criterio de aceptación se estableció que los %R estuvieran en el rango: 80-120%

Este método puede considerarse una interesante alternativa a los métodos analíticos de análisis de alimentos que se consideran como estándar (métodos AOAC), que suelen utilizar ácidos concentrados para el tratamiento de muestra. Además la técnica MIP OES (multielemento) tiene varias ventajas sobre otras técnicas de espectrometría atómica ampliamente utilizadas, como el hecho de evitar el uso de gases costosos como el argón y el acetileno de alta pureza.

También se realizaron análisis de blancos de reactivos que fueron sometidos al mismo tratamiento que las muestras, pero en ausencia de estas.

Todos los parámetros de desempeño evaluados resultaron adecuados para el fin propuesto, con un único método de extracción simultáneo y cuantitativo de preparación de muestras para todos los cortes crudos y cocidos.

Los resultados de este desarrollo fueron publicados en la revista Journal of Food Composition and Analysis (Pistón et al., 2020).

Tabla 16. Cifras de mérito obtenidas mediante MIP-OES

Parámetros de desempeño	Hierro (Fe)	Cobre (Cu)	Cinc (Zn)
Rango lineal (mg L ⁻¹)*	0,18-20,0	0,009-2,0	0,027-2,0
LD (mg kg ⁻¹), base seca	4,2	0,17	0,46
LC (mg kg ⁻¹), base seca	13	0,51	1,54
Veracidad ** (n = 10)	100,6	93,4	85,6
t experimental ***	0,03	- 0,79	- 2,20
Precisión intermedia (RSD%, n=6)	9	3	2

* Rango lineal estudiado para esta aplicación (expresado en solución).

** Recuperación (%) comparado con el valor certificado para el CRM analizado. Todos los resultados (excepto el rango lineal) se expresan como valores medios, base seca.

*** Comparación con la recuperación del 100% por prueba t Student's (0,05, 10) = 2,26 (Miller y Miller, 2010).

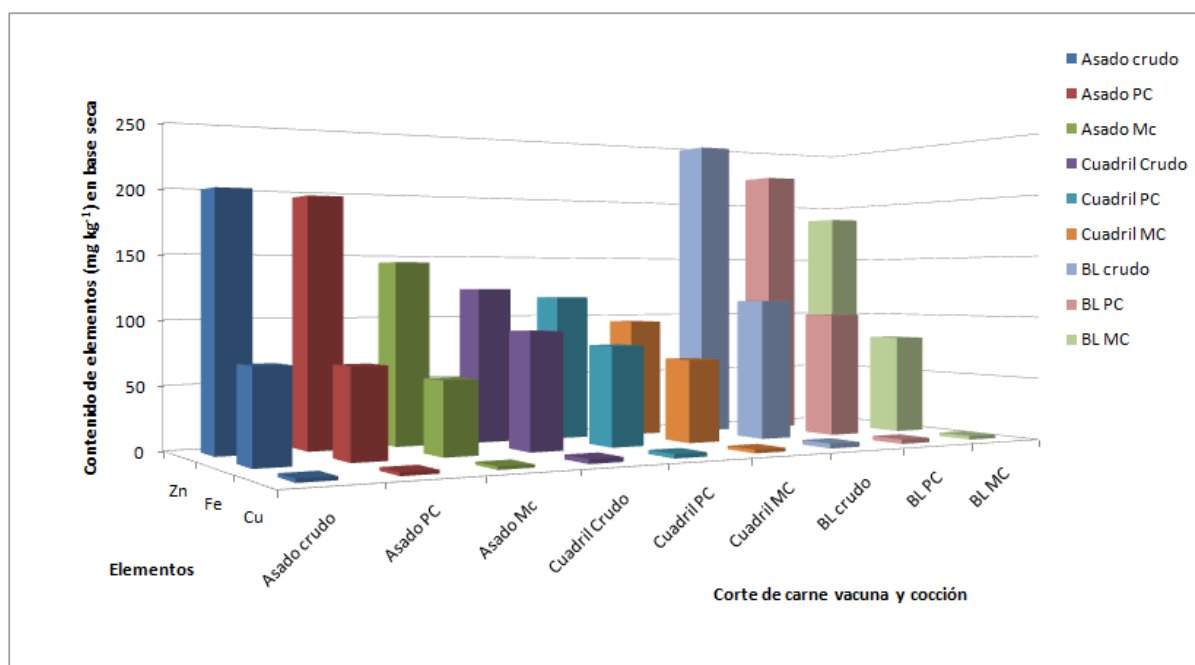
4.1.4. Contenido de oligoelementos en carne vacuna cruda y cocida

Luego de validar el método analítico, se realizaron las determinaciones de Cu, Fe y Zn en las 360 muestras de carne vacuna.

Se verificó, mediante la prueba t de Student's ((0.05, 39) = 1.99) que los niveles obtenidos de cada elemento (en los 40 animales para cada corte y cocción) eran estadísticamente comparables, dentro de la variabilidad que se obtuvo entre animales individuales, y por lo tanto, se podían promediar (Miller y Miller, 2010). En la Figura 25 se presentan los promedios del contenido que se obtuvo para cada elemento en los tres cortes y los tres grados de cocción estudiados expresados en base seca a los efectos de que se puedan comparar entre ellos.

El porcentaje de humedad de la carne cruda fue en promedio 74 %, para el punto de cocción poco cocido 69 % y el muy cocido 65 % (valores medios sin diferencias significativas entre cortes).

Para comparar el contenido de minerales en la carne vacuna poco cocida, muy cocida, y cruda, se utilizó prueba t de Student's (Miller y Miller, 2010).



Los resultados se expresan como el promedio de todos los animales (n=40, en base seca).

PC: poco cocido, la pérdida de masa obtenida fue de entre 10 y 16%

MC: muy cocido, la pérdida de masa obtenida fue de entre 28 y 35%

BL: corte de carne vacuna bola de lomo

Figura 25. Contenido de elementos (mg kg⁻¹) en los diferentes cortes de carne vacuna y sus cocciones.

Los resultados obtenidos en las muestras de carne vacuna cruda analizadas se encuentran dentro de los valores informados por autores nacionales, los cuales reportaron niveles de Cu en el rango de (0,019 – 0,12) mg / 100 g de carne vacuna cruda, niveles de Zn entre (2,0 - 7,27) mg / 100 g, de Fe entre (1,42 - 4,82) mg / 100 g y de Fe Hemo de (1,4 - 3,3) mg / 100 g (valores de bibliografía en base fresca).

Se observa también que los valores resultantes del presente trabajo son concordantes con los reportados a nivel internacional (Tabla 2).

En los 40 animales analizados durante todo el estudio, se observó como tendencia en los resultados un mayor nivel de Zn en el corte bola de lomo y el menor en cuadril. Este comportamiento se logró apreciar tanto para muestras crudas como cocidas (Pistón et al., 2020).

Según los resultados obtenidos, la carne vacuna uruguaya es una fuente particularmente buena de Zn (incluso en el corte cuadril) y una buena fuente de Cu y Fe (NIH, 2011 a; FDA, 2016).

Si bien la matriz carne, como otros alimentos, presentan una gran variabilidad debido a que influyen muchos factores en su composición como la raza de la cual provienen, su alimentación, edad de sacrificio, si sufrió estrés, peso, entre otras; la tendencia en las muestras analizadas presenta a la carne vacuna como una buena fuente de cinc y de hierro biodisponible en la dieta.

4.1.5. Porcentaje de retención de oligoelementos

Para evaluar cómo afecta este proceso de cocción en particular al contenido de Cu, Fe y Zn en la carne vacuna, se estudió el porcentaje de retención de los mismos luego de este proceso con respecto a las muestras crudas. Para ello se utilizó la ecuación descrita por Bognár y Piekarski (2000) en la que se tomó en cuenta la pérdida de peso que sufre el corte luego de la cocción, la concentración del nutriente determinado en los cortes crudos como valores de partida y se compararon con los obtenidos en los cortes cocidos.

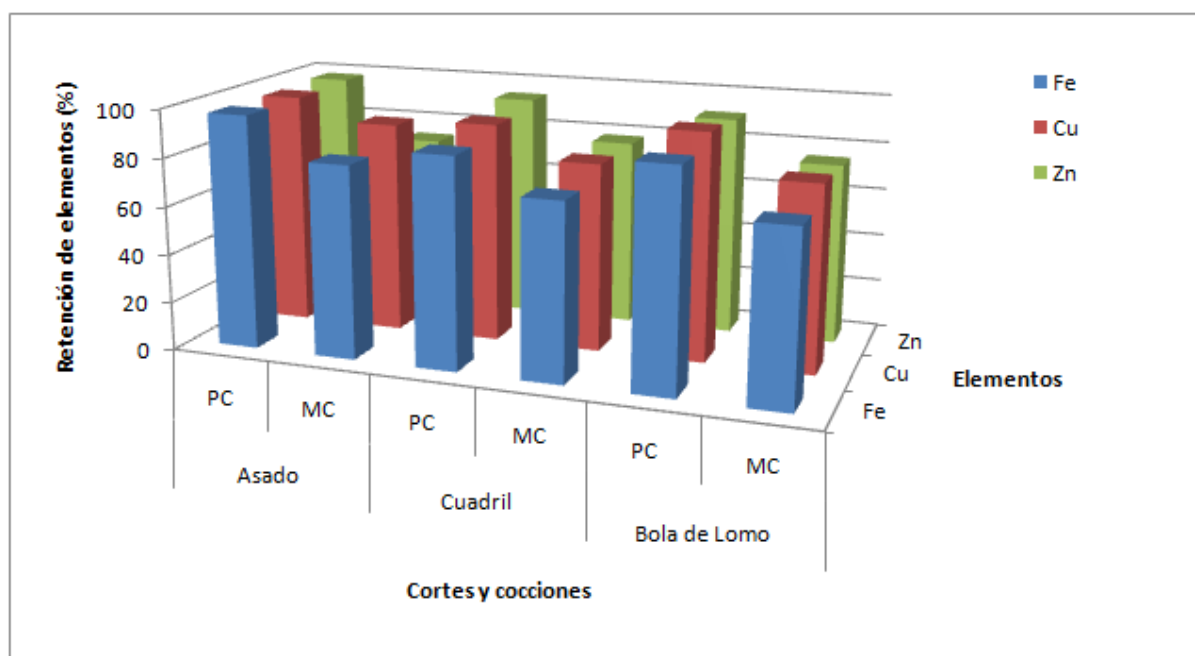
Luego de verificar para las muestras de los 40 animales analizados, mediante la prueba t de Student's ($(0.05, 40) = 1.99$) que los porcentajes de retención de los nutrientes estudiados para cada corte y en cada grado de cocción no difirieron significativamente en su contenido medio, se realizó el promedio.

Para los procesos de cocción, cabe mencionar que resulta muy difícil alcanzar en todas las muestras el mismo porcentaje de pérdida de peso en cada punto, por lo cual se fue registrando y sistematizando el proceso para obtener siempre dos puntos bien definidos, tanto por el aspecto como por la temperatura final del proceso en el centro del corte.

Mediante la utilización del software InfoStat® se realizó el análisis estadístico de los resultados mediante ANOVA del porcentaje de pérdida de masa entre los dos puntos de cocción utilizado para cada corte y se encontró (con una confianza del 95%) que hubo diferencia significativa entre ellos, teniendo el punto muy cocido una mayor pérdida de masa con respecto al punto poco cocido. Esto podría interpretarse como que se logró realizar las cocciones de forma sistemática en dos puntos de cocción (para cada corte) francamente diferentes entre ellos.

También se estudió estadísticamente mediante ANOVA los tres cortes analizados para cada punto de cocción (poco y muy cocido) utilizando el software InfoStat®. Con una confianza del 95% se obtuvo que no hubo diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de pérdida de masa entre los tres cortes para un mismo punto de cocción (tanto en poco como en muy cocido). Esto sugiere que se logró llegar a puntos de cocción estadísticamente comparables en los tres cortes mediante los procesos utilizados.

El procesamiento de las carnes se realizó tomando en consideración cómo lo haría un consumidor en su hogar o en un restaurante. No se agregaron sal ni otros condimentos para no agregar variables que pudieran alterar los resultados obtenidos.



Los resultados se expresan como el promedio de todos los animales (n=40, en base seca).

PC: poco cocido, pérdida de masa entre 10 y 16%

MC: muy cocido, pérdida de masa entre 28 y 35%

BL: corte de carne vacuna bola de Lomo

Figura 26. Porcentajes de retención de elementos (%) en carne vacuna

Al estudiar el porcentaje de retención de los elementos en las muestras de carne cocidas, utilizando la ecuación descrita por la literatura utilizada como referencia (Bognár y Piekarski, 2000) se observa que al aumentar el grado de cocción (el cual es medido como la pérdida de masa debida a la cocción) aumenta la pérdida de dicho porcentaje. Esta tendencia se ha mantenido a lo largo de todo el estudio. La pérdida de masa observada para el grado medio de cocción (poco cocido) fue entre 10% y 16%, mientras que para las muestras muy cocidas fue entre 26% y 35%.

Mediante un análisis y tratamiento de datos, se pudo observar que hasta una pérdida de masa por cocción del 15%, no se supera el 20% de pérdida de Fe, Cu y Zn (lo que equivale a decir que se retiene el 80% de oligoelementos iniciales), mientras que pueden llegar a perderse entre un 20% y un 40% del contenido inicial de elementos del producto crudo cuando la pérdida de masa debida a la cocción es de 30% o mayor.

Al analizar los resultados obtenidos con su correspondiente incertidumbre asociada, se observa que en general no existen pérdidas significativas de los nutrientes aún cuando se alcanzan porcentajes de pérdida de masa en el entorno de 33%. Por lo que mediante la utilización del proceso seleccionado de cocción, se favorece la preservación de buena parte de los nutrientes del alimento.

4.2. Determinación de Fe Hemo en muestras de carne vacuna cruda y cocida.

Para las determinaciones de hierro Hemo en los tres cortes de carne vacuna (asado, cuadril y bola de lomo) crudos y cocidos se tomó como base el método de espectrometría molecular en el visible presentado por Hornsey (1956) ya descrito previamente.

4.2.1. Optimización de las condiciones de extracción.

Se estudió la influencia de las variables tiempo de agitación y de maceración requeridos para la extracción de pigmentos hemo totales presentes en la carne vacuna al utilizar el método clásico reportado por Hornsey (1956). Para optimizarlos se realizó un diseño experimental multivariado de tipo central compuesto de dos variables en 5 niveles (Massart et al., 1998).

Mediante la utilización del software Statistica® se obtuvo la superficie de respuesta, donde las condiciones óptimas fueron tiempo de agitación entre 30 y 40 segundos y un tiempo necesario para la extracción de los pigmentos hemo entre 45 y 60 minutos. Los resultados de esta optimización fueron publicados en la revista Avances en Ciencias e Ingeniería (Bühl et al., 2019).

$$\text{Concentración Fe hemo (mg kg}^{-1}\text{)} = -6,9245 + 0,7482x + 0,226y - 0,0071x^2 - 0,002xy - 0,0018y^2$$

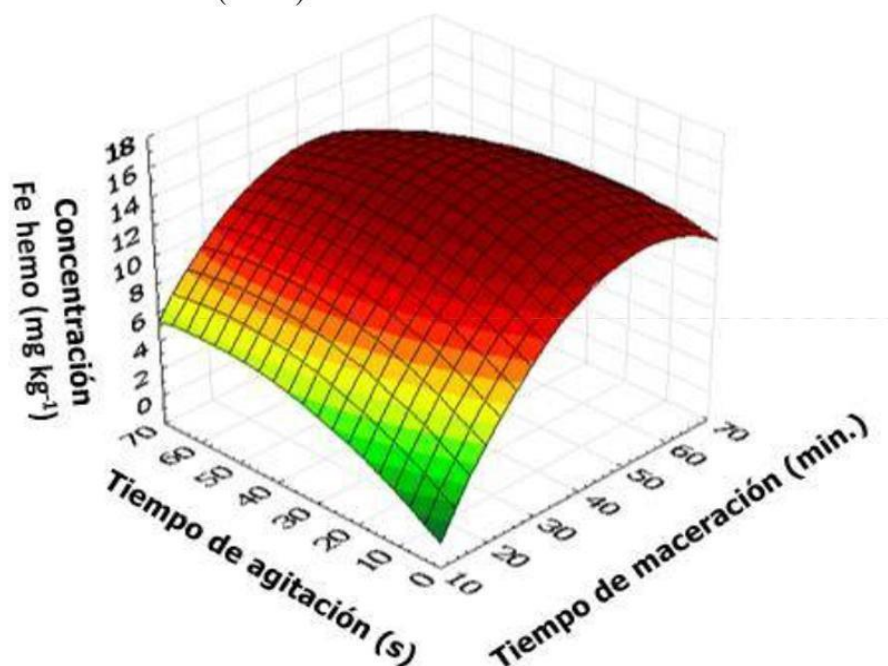


Figura 27. Superficie de respuesta para las variables tiempo de agitación (s) y de maceración (min).

La optimización realizada confirmó que el tiempo de maceración en la oscuridad reportado en la publicación original de Hornsey (1956) de 1 hora es adecuado ya que se encuentra dentro del rango óptimo, sin embargo se obtienen muy buenos resultados con un tiempo de 45 minutos.

La agitación sistemática realizada mediante agitador orbital (Daihan Sho-2D) entre 30 y 40 segundos brindó resultados reproducibles, variable de la cual no se mencionan detalles en el método original.

El método se pudo realizar con menor cantidad de muestra y volumen de disolvente (manteniendo las proporciones entre ambos).

4.2.2. Validación.

En análisis de alimentos es habitual la utilización de métodos empíricos, como el de Hornsey (1956).

Los resultados de precisión obtenidos con valores de RSD menores al 10% avalan la aplicación del método para su empleo de rutina en la determinación de Fe Hemo.

Los bajos coeficientes de variación para los diferentes días, indican que el método es repetible durante los días del análisis y la precisión es aceptable para las condiciones analizadas de la técnica puesto que son inferiores al 10%.

Para evaluar la veracidad de los resultados se compararon los mismos con los que se obtuvieron mediante la realización de una curva de calibración con patrón de hemina.

Del valor obtenido en el coeficiente de correlación ($R= 0,998$), la inspección visual y estudio de aleatoriedad de los residuales se observa la dependencia lineal existente entre la absorbancia y la concentración de hierro hemo extraído de cada uno de los patrones preparados, es decir, existe correlación lineal del método en el rango evaluado.

La linealidad muestra la proporcionalidad que existe entre la concentración (cantidad) de analito presente en la muestra y la señal con la cual se cuantifica el analito.

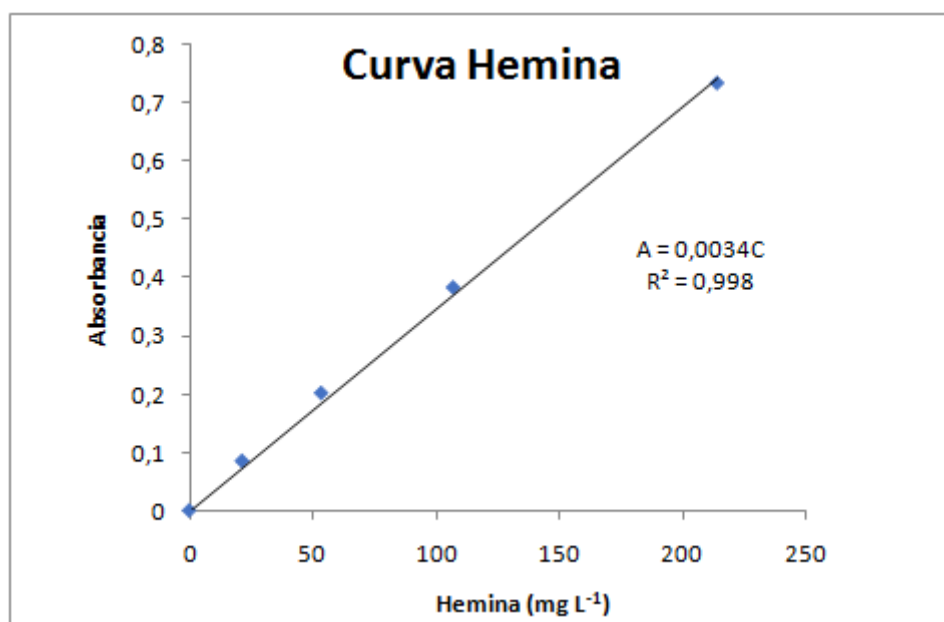


Figura 28. Curva obtenida mediante diluciones del patrón de Hemina

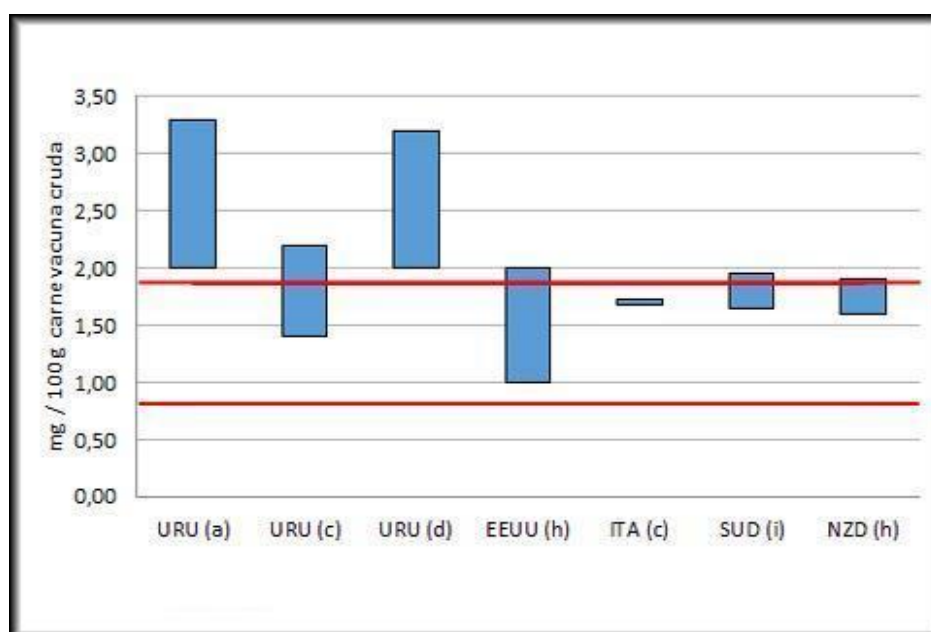
Al interpolar las absorbancias obtenidas de las muestras estudiadas luego de aplicar el método empírico de Hornsey (1956) en las condiciones establecidas previamente, en la curva de calibración realizada con las soluciones obtenidas a partir del patrón de hemina, se observó que los niveles de Fe Hemo determinados mediante la aplicación de la ecuación empírica se encuentran en el entorno del 85% de los valores obtenidos mediante la interpolación. Debido a estos resultados obtenidos la aplicación del referenciado método empírico de Hornsey (1956) resultó adecuado para los fines propuestos.

Los métodos empíricos son muy utilizados en el análisis de alimentos (por ejemplo el método de Kjeldahl para la estimación de proteínas AOAC 976.05 el cual rige en el RBN, la determinación cuantitativa de carotenoides totales según el método espectrofotométrico a 450 nm descrito por Rodríguez (2001), entre otros).

Debido a que los alimentos son una matriz compleja, es pertinente que en la aplicación de los métodos químicos empíricos indirectos éstos sean calibrados (Romero, N., 1997). En este trabajo se realizó la calibración con el patrón de Hemina para validar el uso del método empírico, optimizado en el trabajo de tesis. Debido al costo del patrón y a que se verificó una buena correlación con los resultados obtenidos utilizando el método empírico es que para las sucesivas determinaciones se utilizó dicho método.

4.2.3. Contenido de Fe Hemo en los cortes carne vacuna cruda y cocida

Hasta el momento se han encontrado pocas publicaciones (tanto a nivel nacional como internacional) que informen sobre el contenido de hierro hemo en carne vacuna cruda, en tanto que para carne vacuna cocida son aún más escasos los reportes. En cuanto a porcentajes de retención de hierro hemo en cortes de carne vacuna nacional debidas a la cocción, tampoco se han evidenciado estudios al respecto, por lo que este estudio aporta nueva información. En la Figura 29 se presentan con barras los rangos de valores reportados (expresados en mg por 100 gramos de muestra de carne cruda en base fresca). Las dos líneas rojas delimitan los niveles obtenidos en el presente estudio que se encuentran dentro de los aportados por otras investigaciones. Si bien se encontraron dos publicaciones a nivel nacional que obtuvieron mayores cantidades de hierro hemo, cabe destacar que no se han analizado exactamente los mismos cortes ni en las mismas condiciones que en el presente proyecto.



URU (a): Uruguay (Cabrera y Saadoun, 2014)

URU (c): Uruguay (Abdo, 2011)

URU (d): Uruguay (Ramos et al., 2012).

EEUU (h): Estados Unidos (Purchas y Busboom, 2005)

ITA (c): Italia (Abdo, 2011)

SUD (i): Sudáfrica (Pretorius, 2016)

NZD (h): Nueva Zelanda (Purchas y Busboom, 2005)

Figura 29. Niveles de Fe Hemo (mg en 100 gramos de carne vacuna cruda en base húmeda) reportados por publicaciones nacionales e internacionales.

Se realizó el correspondiente tratamiento de datos estadísticos y se verificó mediante ANOVA (para los 40 animales una confiabilidad del 95%) que las muestras eran estadísticamente comparables con el software InfoStat® (Miller y Miller, 2010). No se encontró diferencia estadísticamente significativa (con una confiabilidad del 95%) entre el contenido de Fe Hemo entre los puntos de cocción para cada

corte analizado. Lo cual indica una buena conservación del nutriente al realizar este tipo de procedimiento de cocción.

En el corte de carne asado se encontraron niveles comprendidos entre 48 y 75 mg kg⁻¹, en cuadril entre 50 y 85 mg kg⁻¹, mientras que en bola de lomo se apreciaron entre 70 y 100 mg kg⁻¹ (niveles de crudos y cocidos en base seca). Estos niveles están de acuerdo con la bibliografía (Pretorius et al., 2016; Rakowska et al., 2017; Lombardi Boccia et al., 2002a; Lombardi Boccia et al., 2002b) y expresan la recomendable buena calidad nutricional de este alimento.

Los niveles de Fe Hemo determinados en el corte de carne vacuna asado (crudo y cocidos) fueron menores a los otros dos cortes cocidos, lo que indica un mayor aporte de hierro biodisponible de los cortes traseros estudiados (Bühl, et al, 2019).

Mediante la utilización de la ecuación descrita por Bognár y Piekarski (2000), se obtuvo el porcentaje de retención de hierro hemo para cada corte en ambos puntos de cocción analizados para poder evaluar cómo afecta este proceso de cocción en el nivel de este nutriente.

En cada corte de carne vacuno estudiado, se comparó (mediante ANOVA con una confiabilidad del 95% realizado con el software InfoStat®) el porcentaje de retención de hierro hemo en ambos puntos de cocción para evaluar su pérdida o conservación. Debido a que no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ellos se podría interpretar que el hierro hemo es bien retenido por estos cortes a pesar del grado de cocción (teniendo en cuenta el tipo y condiciones particulares del proceso térmico utilizado en el presente estudio).

Asado, cuadril y bola de lomo se compararon también en cada punto de cocción en cuanto a su porcentaje de retención de hierro hemo. Al realizar el correspondiente tratamiento de datos estadístico mediante ANOVA con el programa estadístico InfoStat® (con un 95% de confianza), se obtuvo que el corte asado presentó diferencia estadísticamente significativa respecto a los cortes traseros. El corte delantero con hueso retuvo en el entorno del 87% de hierro hemo al someterlo al proceso de cocción, mientras que los cortes traseros retuvieron mayores porcentajes. De estos resultados se desprende que el método de cocción utilizado conserva de manera muy favorable el contenido de hierro biodisponible presente en la carne vacuna ya que es bien retenido por ésta a pesar del grado de cocción, lo cual es beneficioso nutricionalmente.

Para el procedimiento de cocción utilizado en el presente trabajo en los cortes y condiciones analizados, se obtuvo un buen grado de conservación de Fe hemo proveniente de la carne vacuna, lo cual es beneficioso nutricionalmente.

Se realizó el tratamiento estadístico de datos (ANOVA con un 95% de confiabilidad mediante el uso del software InfoStat®) para analizar el porcentaje de hierro hemo en el hierro total contenido en las muestras de carne vacuna (para los 40 animales estudiados). No se encontró diferencia estadísticamente significativa en dicho porcentaje entre los puntos de cocción de un mismo corte. Esto se cumplió tanto para asado como cuadril y bola de lomo.

Se obtuvieron interesantes cantidades de hierro hemo en los cortes de carne aún cocidos representando el 85 % del contenido de hierro total.

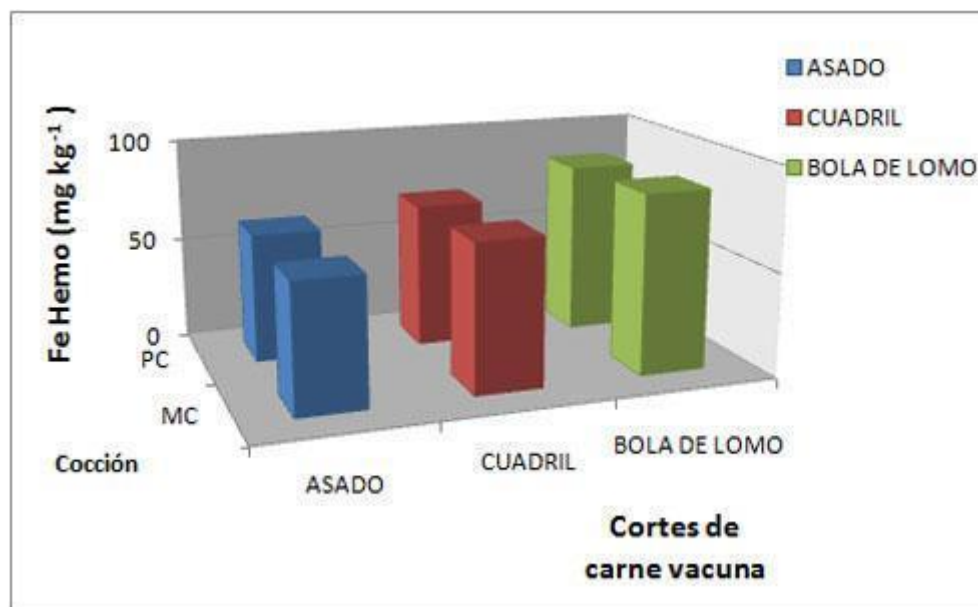
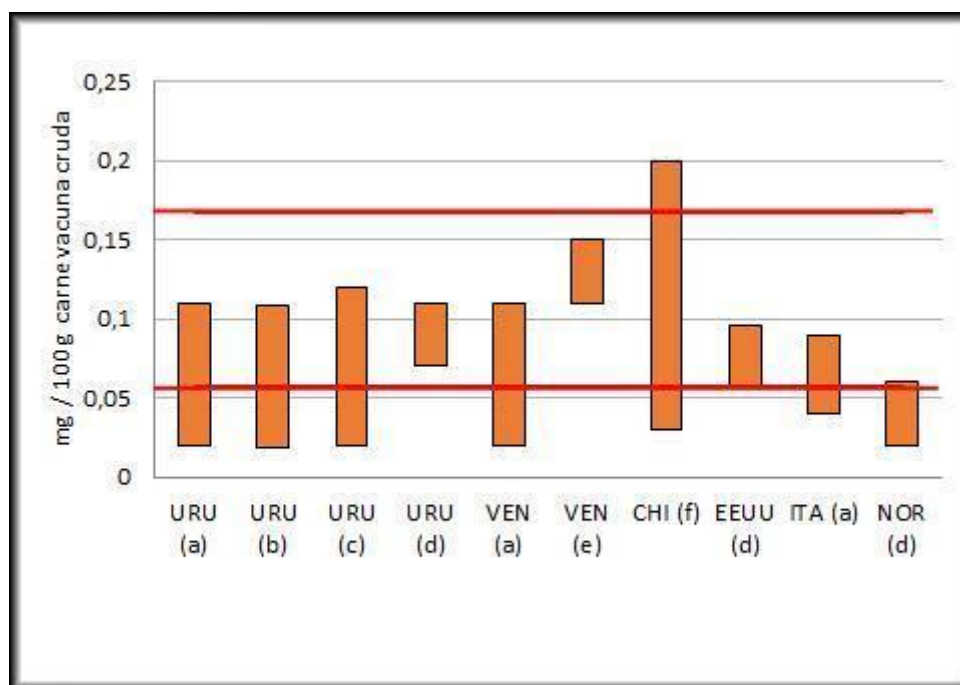


Figura 30. Contenido de Hierro hemo (mg kg⁻¹ en base seca) por corte de carne y cocción (n=40).

4.3. Niveles totales de los elementos

4.3.1. Cobre

4.3.1.a. Comparación de valores obtenidos en el trabajo respecto a bibliografía



Publicaciones citadas en el eje de abscisas y los países a los cuales hacen referencia.

URU (a): Uruguay (Cabrera y Saadoun, 2014)

URU (b): Uruguay (Cabrera et al., 2010)

URU (c): Uruguay (Abdo, 2011)

URU (d): Uruguay (Ramos et al., 2012).

VEN (a): Venezuela (Cabrera y Saadoun, 2014)

VEN (e): Venezuela (Arenas de Moreno, et al., 2000)

CHI (f): Chile (Valenzuela, et al., 2008)

EEUU (d): Estados Unidos (Ramos et al., 2012).

ITA (a): Italia (Cabrera y Saadoun, 2014)

NOR (d): Noruega (Ramos et al., 2012)

Figura 31. Niveles de cobre (mg en 100 gramos de carne vacuna cruda en base húmeda) reportados por publicaciones nacionales e internacionales.

En la figura 31 se representan con barras los rangos de valores reportados en publicaciones nacionales e internacionales del contenido de cobre (en el eje de ordenadas en mg por 100 gramos de carne vacuna cruda) correspondientes a las carnes provenientes de los países que se relevaron (eje abscisas junto a la cita correspondiente).

Entre las líneas rojas se encuentran los valores obtenidos en el presente trabajo, los cuales están de acuerdo con la bibliografía.

4.3.1.b. Niveles de Cu obtenidos según cortes y cocciones

Se realizó el tratamiento estadístico de datos mediante ANOVA (con una confiabilidad del 95%) utilizando el software InfoStat® y se evaluaron las diferencias mediante el test de Tukey (resumen en Anexo I). Al comparar el contenido de Cu en cada corte según los grados de cocción entre ellos y con el crudo, se obtuvo que no hubo diferencia significativa con la cocción, por lo que el Cu es bien retenido por la carne en este proceso de cocción en particular. A pesar de ello se aprecia una disminución en los niveles de Cu para cada corte con el aumento del grado de cocción.

En las Figura adjunta puede observarse los contenidos de cobre (mg kg^{-1}) en los tres cortes de carne vacuna estudiados (asado, cuadril y bola de lomo) según el grado de cocción al que fueron sometidos. La tendencia encontrada fue que en el corte bola de lomo se encontraron los mayores niveles de Cu tanto para las muestras crudas como las cocidas. Así como en el asado los niveles determinados fueron los menores.

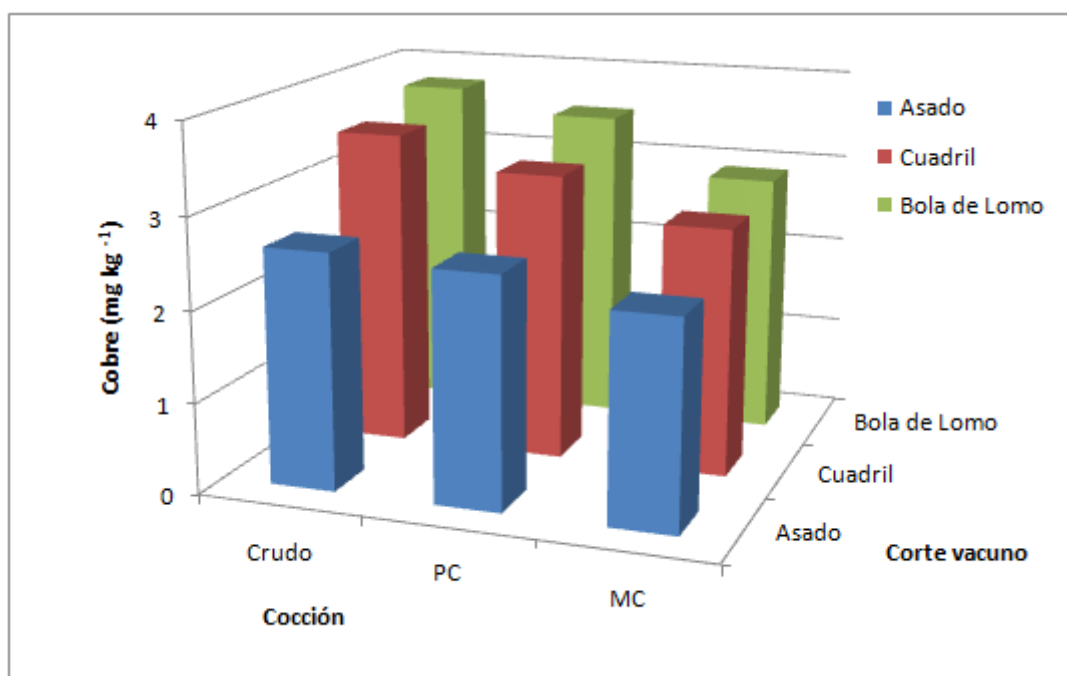


Figura 32. Contenido de cobre (mg kg^{-1} en base seca) por corte de carne y cocción ($n=40$).

4.3.1.c. Porcentaje de Retención de Cu

Se estudió la influencia de la pérdida de peso debida al grado de cocción en el contenido de Cu en muestras de carne vacuna correspondientes a tres cortes de consumo en Uruguay como son el asado, cuadril y bola de lomo. Para evaluar cómo afecta éste proceso de cocción en particular, al contenido de Cu en carne vacuna, se estudió el porcentaje de retención del nutriente luego de éste proceso mediante la utilización de la ecuación descrita por Bognár y Piekarski, en la cual se toma en cuenta la

pérdida de peso que sufre el corte luego de la cocción y la concentración del nutriente determinada antes y luego del proceso térmico.

Se realizó un análisis y tratamiento de datos, del cual se pudo observar que hasta una pérdida de masa por cocción del 15%, se retiene hasta un 94% de Cu inicial presente en la muestra.

Se observa la tendencia de disminuir el nivel de Cu al aumentar el grado de cocción (es decir, al aumentar la pérdida de masa debida al tratamiento térmico).

Si bien el corte asado presentó menores niveles de Cu iniciales respecto a los cortes traseros estudiados, al someterlos a este proceso de cocción en particular, la tendencia fue que el corte delantero con hueso retuvo más este elemento para el punto de mayor cocción trabajado (muy cocido).

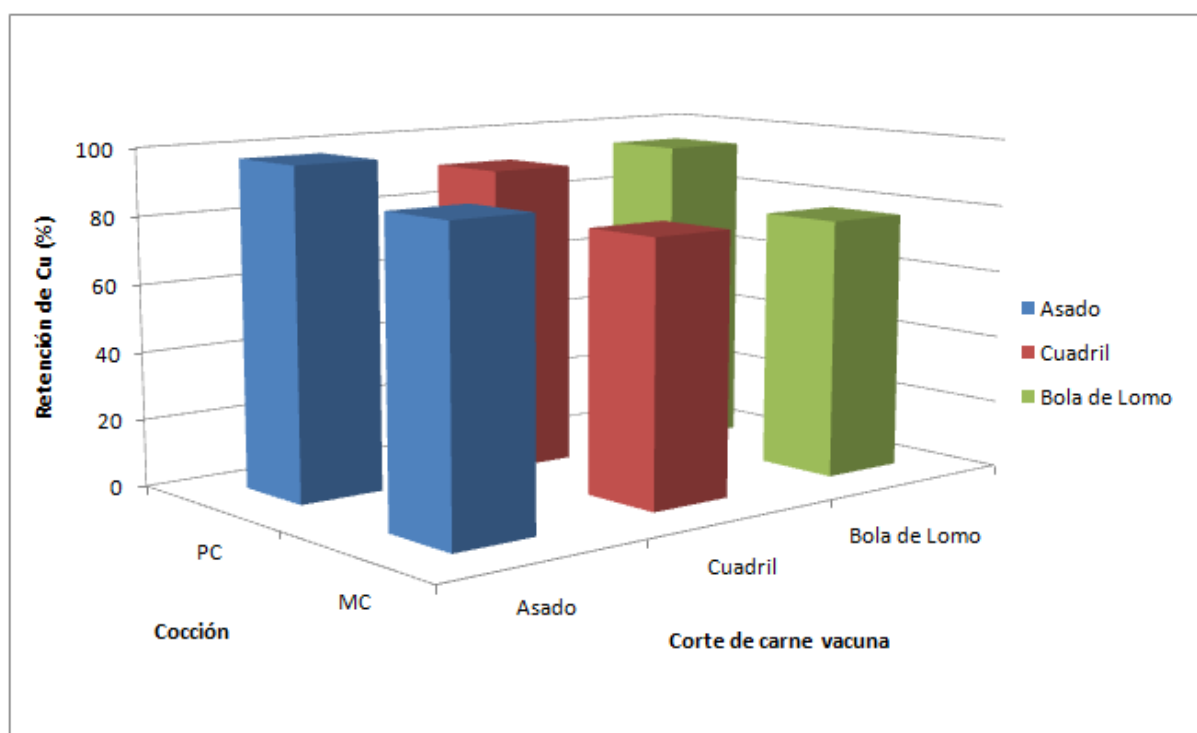
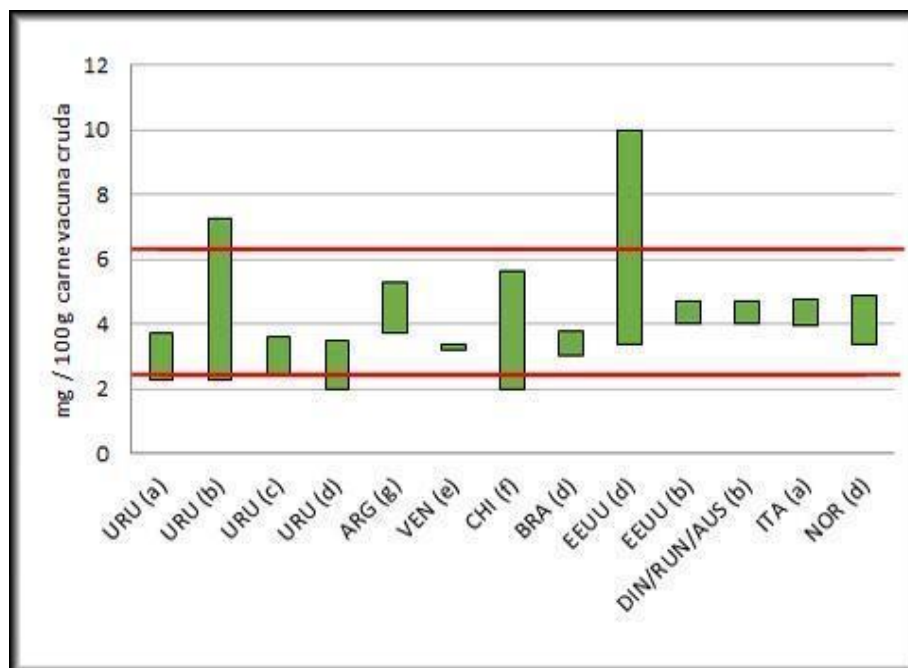


Figura 33. Porcentaje de retención de cobre por corte de carne vacuna y por cocción (n=40)

4.3.2. Zinc

4.3.2.a. Comparación de valores obtenidos en el trabajo respecto a bibliografía



Publicaciones citadas en el eje de abscisas y los países a los cuales hacen referencia.

URU (a): Uruguay (Cabrera y Saadoun, 2014)

URU (b): Uruguay (Cabrera et al., 2010)

URU (c): Uruguay (Abdo, 2011)

URU (d): Uruguay (Ramos et al., 2012).

ARG (g): Argentina (Programa Cooperativo para el Desarrollo Tecnológico Agroalimentario y Agroindustrial del Cono Sur (PROCISUR), 2015)

VEN (e): Venezuela (Arenas de Moreno, et al., 2000)

EEUU (d): Rango de valores de Cu en carne cruda reportada en Estados Unidos (Ramos et al., 2012).

CHI (f): Chile (Valenzuela, et al., 2008)

BRA (d) Brasil (Ramos et al., 2012)

DIN/RUN/AUS (b):: Dinamarca, Reino Unido, Australia (Cabrera et al., 2010)

EEUU (b): Estados Unidos (Cabrera et al., 2010)

ITA (a): Italia (Cabrera y Saadoun, 2014)

NOR (d): Noruega (Ramos et al., 2012).

Figura 34. Niveles de cinc (mg en 100 gramos de carne vacuna cruda en base húmeda) reportados por publicaciones nacionales e internacionales.

En la figura 34 se representan con barras los rangos de valores reportados en publicaciones nacionales e internacionales del contenido de cinc (en el eje de ordenadas en mg por 100 gramos de carne vacuna cruda) correspondientes a las carnes provenientes de los países que se relevaron (eje abscisas junto a la cita correspondiente). Entre las líneas rojas se delimita el rango de valores obtenidos en el presente trabajo. Los mismos están de acuerdo con lo informado en las publicaciones.

4.3.2.b. Niveles de Zn obtenidos según cortes y cocciones

El contenido de Zn fue diferente en los tres cortes de carne vacuna estudiados. El corte cuadril presentó el nivel más bajo del elemento mientras que bola de lomo ofreció el más alto tanto para muestras crudas como cocidas. Esto podría estar correlacionado con el importante rol que representa el Zn en los procesos metabólicos, en particular con su vinculación respecto al contenido de tejido

conectivo presente en cada corte. De esta forma podría explicarse el menor nivel de Zn en el corte con menor contenido de tejido conectivo. Esto fue informado por Seideman y col (1989), al encontrar mayores niveles de Zn en cortes con mayor proporción de tejido conectivo. Los resultados obtenidos en el presente estudio también están de acuerdo con lo reportado por Rhee y col (2004), quienes hallaron menor contenido de colágeno en cortes correspondientes al músculo glúteo medio de la res, de donde proviene el corte cuadril utilizado.

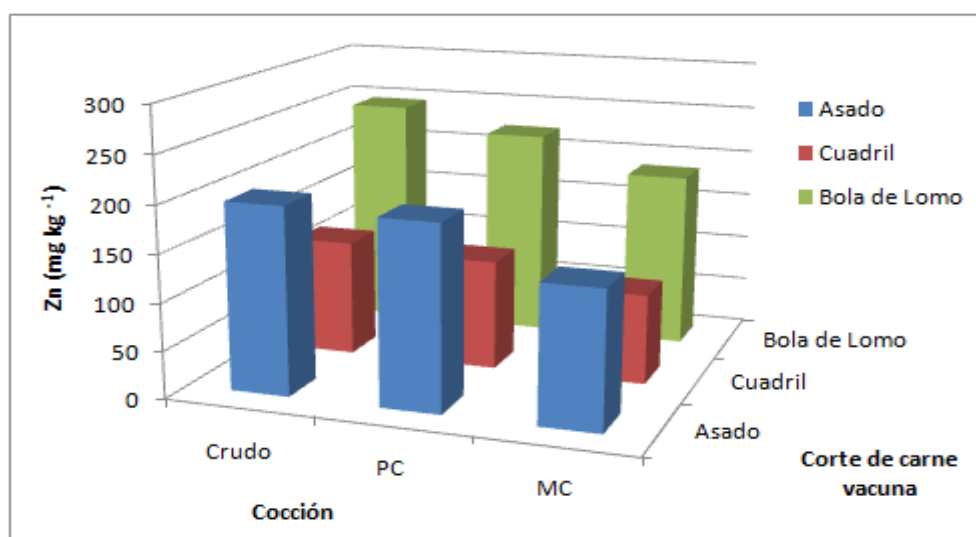


Figura 35. Contenido de Zn (mg kg⁻¹ en base seca) por corte de carne vacuna y por cocción (n=40).

4.3.2.c. Porcentaje de Retención de Zn

La carne vacuna provee un gran aporte de Zn, el cual se mantiene aún luego del porcentaje de pérdida debida a la cocción.

Entre un punto y otro de cocción se perdió mayor contenido de Zn en el corte asado que en los cortes traseros, por lo que se conserva o se retiene más con la cocción en dichos cortes.

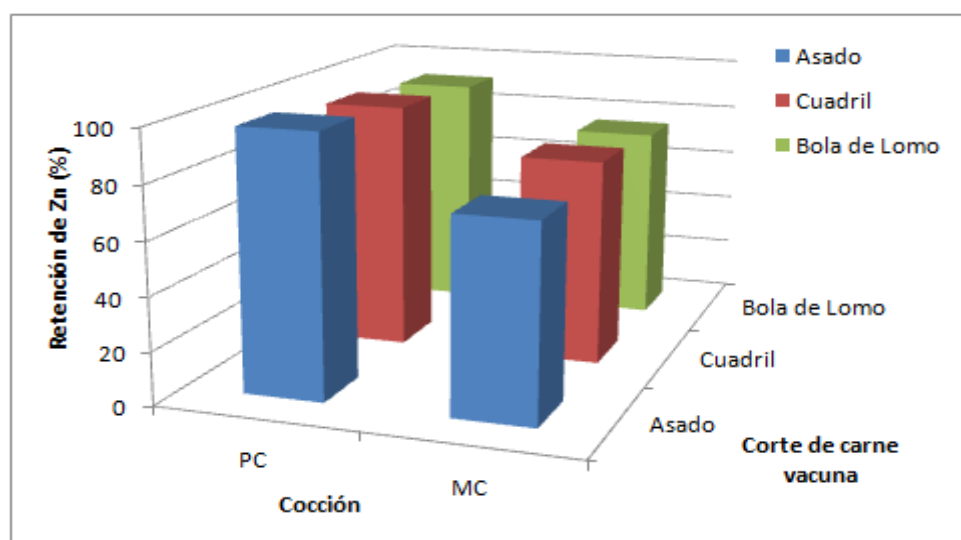
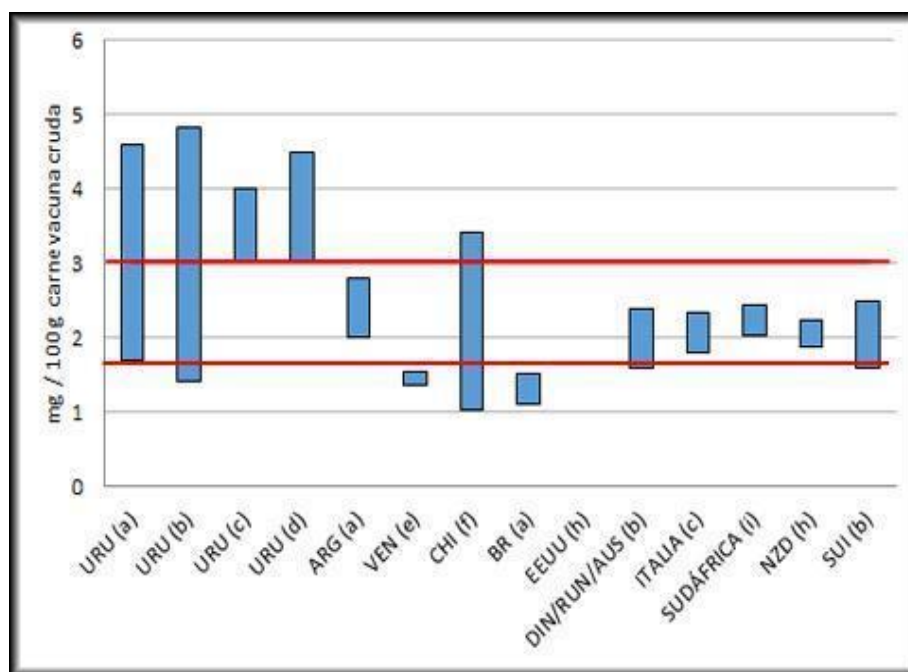


Figura 36. Porcentaje de retención de Zn por corte de carne vacuna y por cocción (n=40).

4.3.3. Hierro

4.3.3.a. Comparación de valores obtenidos en el trabajo respecto a bibliografía



Publicaciones citadas en el eje de abscisas y los países a los cuales hacen referencia.

URU (a): Uruguay (Cabrera y Saadoun, 2014)

URU (c): Uruguay (Abdo, 2011)

ARG (a): Argentina (Cabrera y Saadoun, 2014)

CHI (f): Chile (Valenzuela, et al., 2008)

EEUU (h): Estados Unidos (Purchas y Busboom, 2005)

ITA (c): Italia (Abdo, 2011)

SUD (i): Sudáfrica (Pretorius, 2016)

SUI (b): Suiza (Cabrera et al., 2010)

URU (b): Uruguay (Cabrera et al., 2010)

URU (d): Uruguay (Ramos et al., 2012).

VEN (e): Venezuela (Arenas de Moreno, et al., 2000)

BR (a) Brasil (Cabrera y Saadoun, 2014)

DIN/RUN/AUS(b):: Dinamarca, Reino Unido, Australia (Cabrera et al., 2010)

NZD (h): Nueva Zelanda (Purchas y Busboom, 2005)

NOR (d): Noruega (Ramos et al., 2012).

Figura 37. Niveles de hierro (mg en 100 gramos de carne vacuna cruda en base húmeda) reportados por publicaciones nacionales e internacionales.

Se representan mediante barras los rangos de valores reportados en publicaciones nacionales e internacionales, entre los cuales se encuentran los contenidos de hierro en carne vacuna cruda en la Figura 37. Los niveles de hierro determinados en el presente trabajo se representan mediante dos líneas rojas que delimitan el rango de valores (en mg de Fe por 100 gramos de carne vacuna cruda) entre los cuales se encontraron los mismos. Si bien se presentan dos publicaciones a nivel nacional que reportan mayores valores de hierro, cabe destacar que no se han analizado exactamente los mismos cortes ni en las mismas condiciones que en el presente proyecto.

Se observa que los valores obtenidos están de acuerdo con la bibliografía.

El contenido de Fe determinado en los tres tipos de cortes de carne vacuna analizados fueron significativamente diferentes. El corte con mayor nivel de este elemento fue bola de lomo, seguido por cuadril, mientras que el corte delantero con hueso asado presentó los menores contenidos.

4.3.3.b. Niveles de Fe obtenidos según cortes y cocciones

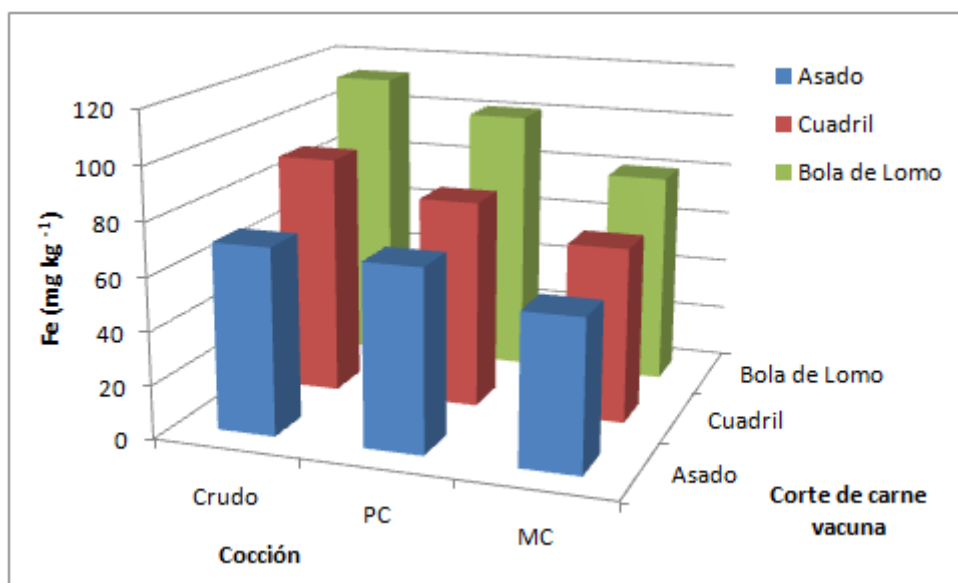


Figura 38. Contenido de Fe (mg kg⁻¹ en base seca) por corte de carne vacuna y cocción (n=40).

4.3.3.c. Porcentaje de retención de Fe

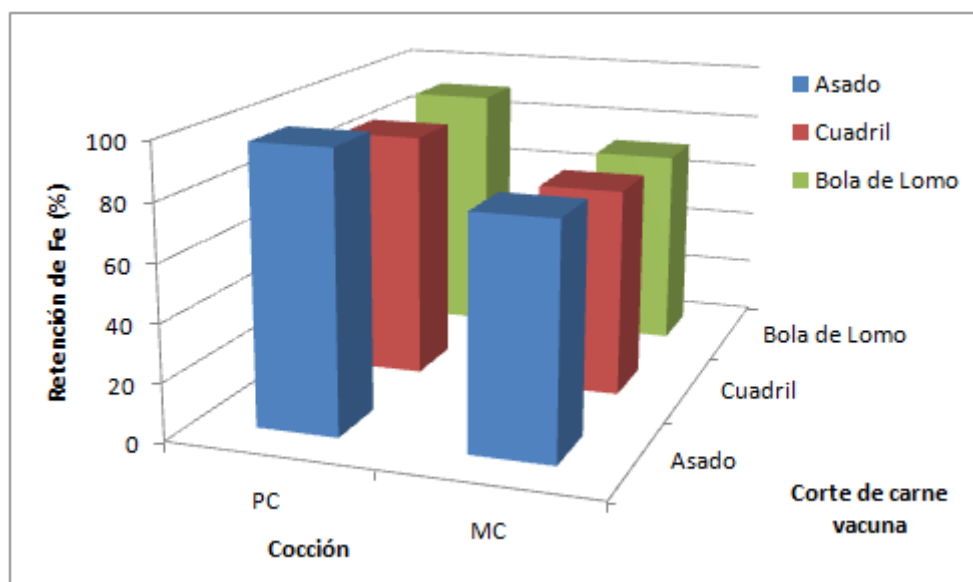


Figura 39. Porcentaje de retención de Fe por corte de carne vacuna y por cocción (n=40).

Si bien se observó la tendencia de mayor nivel de Fe en el corte bola de lomo respecto al asado, cuando se evaluó la retención del elemento al ser sometido al proceso de cocción, resultó ser el asado quien conservó en mayor grado su contenido de Fe inicial para un grado de avance moderado (poco cocido) de pérdida de masa.

A pesar de la disminución en la retención del elemento con el aumento en el grado de cocción, se conservan muy altos porcentajes del contenido inicial del elemento, por lo que podría pensarse que mediante la utilización de éste procedimiento de cocción seca se mantiene de forma favorable la calidad nutricional del alimento desde este punto de vista.

4.4. Perfil nutricional e ingesta diaria

Este tipo de estudios, resulta muy relevante para conocer el verdadero valor nutricional de nuestras carnes, ya que si bien existen estudios que reportan niveles de oligoelementos en carne vacuna, son realizados en muestras crudas y no cocidas como es su habitual consumo, no teniendo en cuenta las posibles variaciones que se producen al transformar al alimento durante el proceso de cocción.

Se ha evaluado la calidad de la carne vacuna en tres cortes seleccionados (asado, cuadril y bola de lomo) y su aporte a los requerimientos diarios de minerales. Los aportes de este alimento por 100 gramos (tomado como porción) se representan en las figuras adjuntas como el porcentaje que cubren de las necesidades diarias en la alimentación. Se realizó la estimación seleccionando los valores de requerimientos para los individuos sanos entre 14 y 70 años (proporcionado tabla NIH), se debe tener en cuenta que estas necesidades varían con numerosos factores como la etapa en la cual se encuentra el individuo, exigencias físicas, padecimientos, etc.

Se compararon los valores obtenidos de oligoelementos con su valor máximo admisible (NIH, 2011a). Como los niveles observados fueron mucho más bajos que el nivel de ingesta superior tolerable, las muestras de carne de vacuno no presentan ningún riesgo para la salud, incluso si se consume más de una porción de 100 g al día.

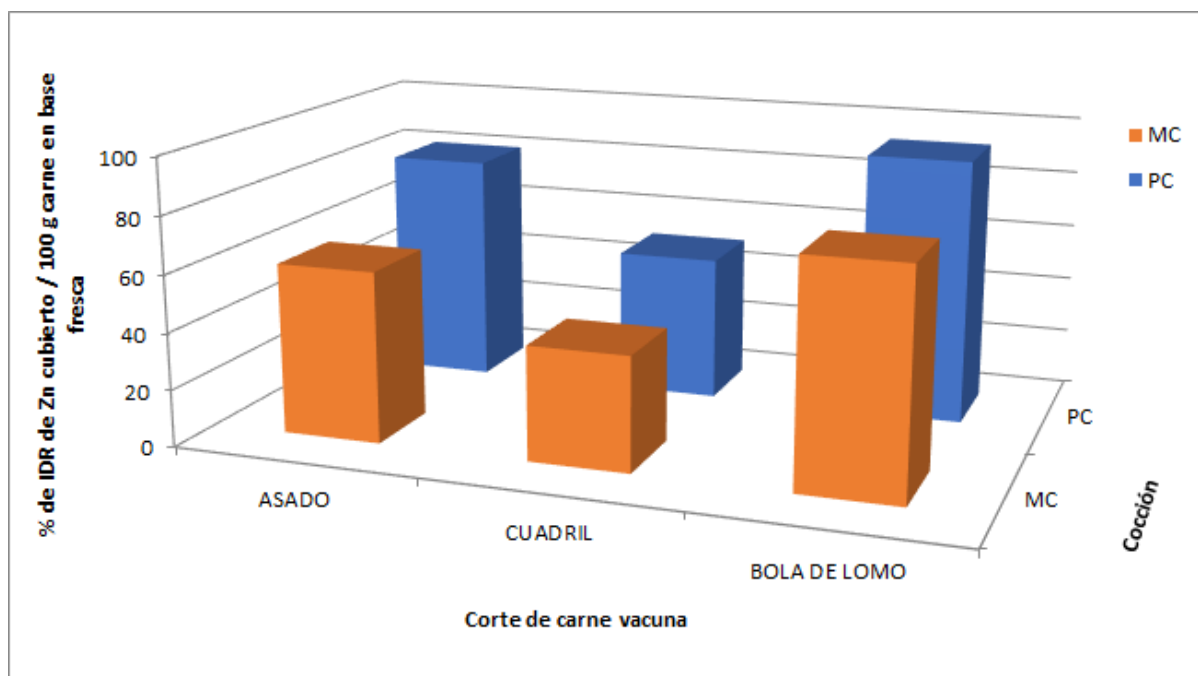


Figura 40. Porcentaje de IDR de Zn cubierto por 100 g de carne según corte y cocción.

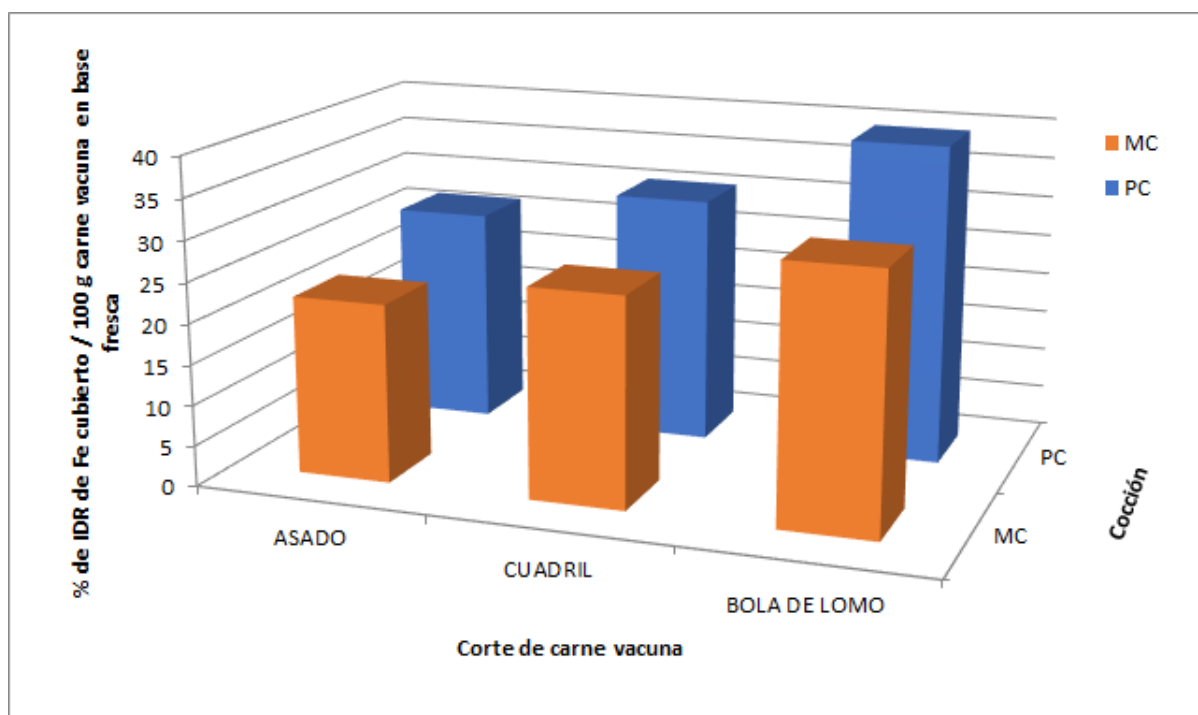


Figura 41. Porcentaje de IDR de Fe cubierto por 100 g de carne vacuna según corte y cocción.

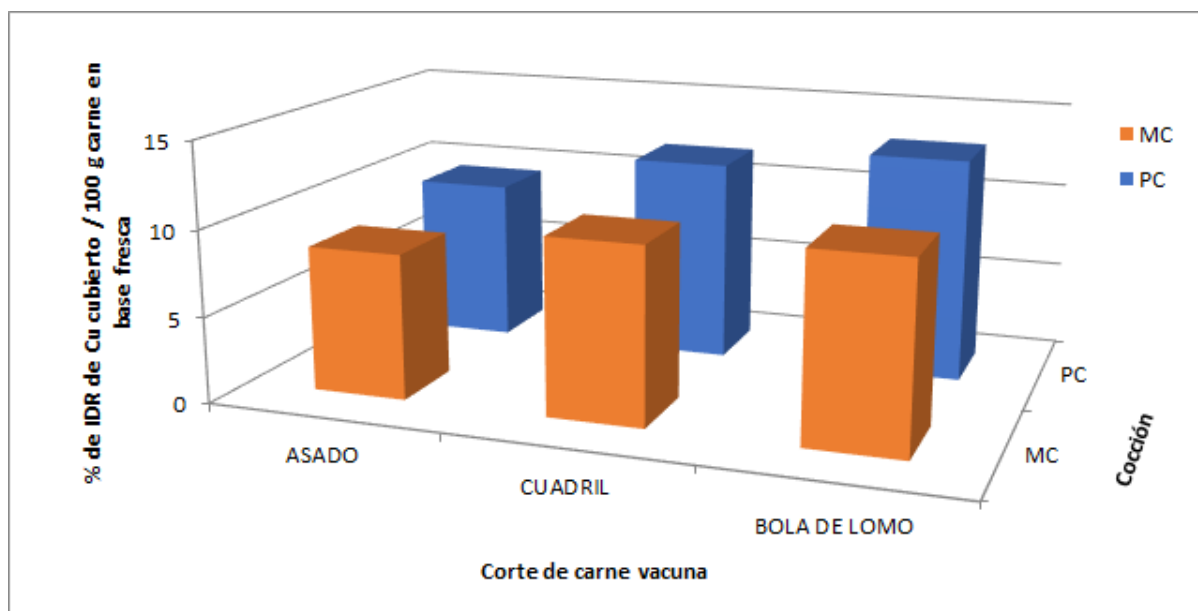


Figura 42. Porcentaje de IDR de Cu cubierto por 100 g de carne vacuna según corte y cocción.

Con el consumo de 100 gramos del corte bola de lomo en el grado más avanzado de cocción estudiado en el presente trabajo, se logra cubrir los requerimientos diarios de Zn en niños de entre 4 y 8 años.

Un alimento es buena fuente de un determinado nutriente, cuando la porción de consumo habitual contiene entre 10% y 19% del requerimiento diario necesario para la buena salud. Mientras que se considera que su nivel es alto en el mismo cuando por porción de consumo habitual cubre en un 20% o más el requerimiento diario del mismo.

La carne vacuna uruguaya cocida mediante este proceso en particular con la utilización de calor seco, es buena fuente de Cu (para los tres cortes estudiados y en ambos puntos de cocción) y su contenido de Zn, Fe y Fe hemo es alto, lo que lo hace un alimento de gran valor nutricional.

El hierro presente en este alimento es mayoritariamente en su forma biodisponible (Fe Hemo), lo que lo hace fundamental en la dieta humana para lograr satisfacer las necesidades de los individuos para el saludable desarrollo humano.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

5.1 Conclusiones

Se obtuvo información de interés para la población en general sobre el valor nutricional de un alimento de elevada ingesta en nuestro país como lo es la carne vacuna uruguaya, en dos grados de cocción utilizados habitualmente por los consumidores.

Se proporcionaron nuevos datos sobre los contenidos de Fe, Cu, Zn y Fe hemo y su porcentaje de retención (calculados mediante la utilización de la ecuación descrita por Bognár y Piekarski (2000)) al someter al alimento a un proceso de cocción seco y se evaluó la influencia de dicho proceso. Estos porcentajes de retención se pueden utilizar para calcular el contenido nutricional de este alimento de forma sencilla y rápida.

Se desarrollaron y validaron métodos analíticos rápidos y sencillos, para la preparación y análisis de minerales en muestras complejas que se utilizaron para determinar cuantitativamente Fe, Cu, Zn y Fe Hemo en carne vacuna cruda y en dos grados diferentes de cocción de consumo habitual en Uruguay. El método de preparación de muestras utilizado permitió extraer simultáneamente Fe, Cu y Zn mediante la utilización de digestión asistida por microondas, no requirió el uso de ácidos concentrados disminuyendo de esta forma la peligrosidad y cantidad de residuos, con relativamente poco tiempo y costos de análisis.

Se adaptó, mediante una optimización multivariada, el método clásico de Hornsey (1956) para la determinación de hierro hemo. Mediante este método se observó que los cortes cuadril y bola de lomo presentaron mayores niveles de hierro biodisponible que el corte delantero con hueso asado.

Se estudió la variación de los niveles de Fe, Fe Hemo, Cu y Zn según los grados de cocción medidos como el porcentaje de pérdida de masa. Si bien resulta difícil en la práctica alcanzar exactamente el mismo punto de cocción en todas las muestras, se logró sistematizar el proceso mediante un equilibrio entre el rigor científico y el procedimiento habitual de cualquier consumidor. La pérdida de masa para un grado medio de cocción (poco cocido) fue entre 10% y 15%, mientras que para las muestras muy cocidas fue entre 26% y 35%.

Las muestras analizadas provenientes de 40 animales correspondiente al corte delantero con hueso asado y los dos cortes traseros sin hueso cuadril y bola de lomo, mostraron como tendencia un mayor valor nutricional en el corte bola de lomo en relación a los otros dos. El contenido de Zn resultó significativamente menor en el corte cuadril, lo cual podría estar vinculado a la diferencia estructural

de los cortes. Si bien se constató una pérdida en el porcentaje de retención de los elementos estudiados al aumentar el grado de cocción en todas las muestras, se conservan en gran parte, lo cual infiere la buena retención de estos mediante el proceso de cocción estudiado.

Todos los objetivos planteados se han cumplido exitosamente. También se logró la vinculación Universidad-Sector productivo mediante contactos con INAC y los resultados obtenidos se han difundido en publicaciones científicas y varios eventos del área de investigación

De acuerdo con los resultados obtenidos, los cortes de carne vacuna uruguaya estudiados aún para el grado más avanzado de cocción analizado son una buena fuente de Cu con un alto aporte de Fe Hemo, Fe y Zn (tomando como base una porción de 100 gramos) para la dieta.

5.2 Perspectivas

Mediante el cálculo de factores de retención que en este caso se obtuvo con datos analíticos experimentales, podría estimarse el valor del nivel de nutrientes para otros alimentos generando factores empíricos que al ser multiplicados por el nivel de nutriente en el alimento crudo se estime un determinado aporte del alimento cocido mediante el método de cocción reportado. Esto podría aplicarse para diversas cocciones y alimentos obteniendo así valores más aproximados al aporte nutricional de los alimentos que obtienen los consumidores de nuestro país, lo cual es una valiosa información sobre la nutrición de nuestros alimentos.

Los factores de retención que existen hoy en día, provistos por organismos internacionales, además de no ser actuales, no se ha evaluado qué tan aplicables son a nuestros productos, que tienen características particulares y diferentes a los alimentos de otras regiones y países. Por lo que la obtención de factores de retención de nutrientes (en diferentes alimentos de consumo habitual) y de cocción (en diferentes tipos y grados de cocciones) en nuestro país sería un gran aporte al conocimiento sobre la calidad nutricional de los alimentos a nivel nacional.

Los rendimientos de cocción describen cambios en el peso de los alimentos debido a pérdidas (evaporación, goteo) o ganancias (absorción) de humedad, grasas, reacciones que se produzcan, etc. Los diversos métodos de preparación de alimentos, y los factores como por ejemplo los tiempos y temperaturas empleadas influyen en dichos rendimientos, por lo que es esencial revisar y actualizar los datos existentes y adquirir nuevos.

Las tablas de rendimientos de cocción, brindan información beneficiosa tanto para investigadores, científicos, profesionales de la nutrición, para la industria y consumidores en general. Brinda valiosa

información sobre el impacto de los métodos de cocción y sus rendimientos, para estimar el aporte nutricional de los alimentos. Es un recurso práctico para tomar decisiones sobre planes alimentarios y preparaciones de alimentos, para poder maximizar los rendimientos de cocción y obtener resultados deseados, por lo cual es importante que se continúe investigando en diferentes alimentos, tipos y grados de cocciones.

A partir de la obtención de niveles de zinc significativamente más bajos en el corte cuadril respecto a bola de lomo y asado, sería interesante estudiar las posibles correlaciones con el nivel de colágeno en los músculos del corte (González, 2013; Villanueva, 2011), en la búsqueda de posibles hipótesis fisiológicas sobre este hallazgo que se puedan extrapolar a otros cortes y músculos bovinos para evaluar su riqueza nutricional.

Sería interesante trabajar en forma conjunta con grupos de investigación de Facultad de Agronomía y de Veterinaria para abordar aspectos relacionados con la alimentación, fisiología animal (cortes y músculos en particular), edafología. Analizar si en caso de detectarse algún déficit en los animales podría solucionarse la situación cambiando y/o suplementando la alimentación animal.

En el Art. 65 de la Ley 13.695 se establece que la Comisión Nacional de Estudio Agro económico de la Tierra (CO.N.E.A.T) mide la capacidad y valor del suelo para producir carne y lana mediante un indicador (expresado como porcentaje óptimo de rendimiento por hectárea por año). Sería interesante estudiar la posible correlación (si existe y en qué medida) del índice CONEAT con el nivel de oligoelementos en la carne ya que hay estudios que establecen cómo las características del suelo de donde proviene el alimento afecta la calidad de la carne (Torre et al., 2005; Bruné et al., 2013).

La formación de los citados grupos interdisciplinarios integrados también por nutricionistas, podría dar una visión más global sobre las interacciones y adecuadas formas de preparación y combinación de alimentos.

Teniendo en cuenta la importancia de la carne vacuna en nuestro país, sería importante realizar estudios de bioaccesibilidad de los nutrientes en este alimento, para poder evaluar efectivamente cuál es el aporte real en la dieta de los mismos. Las proteínas en la carne y derivados cárnicos originan la presencia de péptidos bioactivos, secuencia de aminoácidos cortos, que al liberarse de la proteína de origen durante la digestión gastrointestinal, procesamiento de alimentos o fermentación cumplen funciones fisiológicas antioxidantes, antihipertensivos, antimicrobianos, entre otras (Totosaus y Ariza, 2016; Stadnik y Keska, 2015), de los cuales no se han realizado estudios en nuestro país hasta el momento.

CAPÍTULO 6. PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES

Se presentan a continuación, las publicaciones en revistas arbitradas y las presentaciones en congresos, encuentros a nivel nacional y regional que ha dado lugar parte de esta Tesis.

6.1. Publicaciones y presentaciones en eventos

6.1.1. Trabajos publicados

- *"Influence of cooking processes on Cu, Fe, Mn, Ni, and Zn levels in beef cuts"*. Pistón M., Suárez A., Bühl V, Tissot F., Silva J., Panizzolo L. Journal of Food Composition and Analysis. 94 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103624>
- *"Estudio del contenido de selenio en carne vacuna luego del proceso de cocción"*. Pistón M., Silva J., Suárez A., Belluzzi M., Jaquinta F., Panizzolo L., Méndez C., Cerminara M, INNOTEC Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay, n. 19 ene-jun, 2020, p.:37 - 51, ISSN: 16886593. Disponible en: <https://ojs.latu.org.uy/index.php/INNOTEC/article/view/505>
DOI: <https://doi.org/10.12461/19.05> (Indexado en Latindex)
- *"Optimización de un método espectrofotométrico clásico para la determinación de hierro hemo en carne vacuna"*. Bühl V., Suárez A., Panizzolo L., Méndez C., Cerminara M., Pistón M. Avances en Ciencias e Ingeniería ISSN: 07188706, 10 (3), p.:33 - 40, (Julio-Septiembre 2019) (Indexado en Latindex).
<https://www.executivebs.org/publishing.cl/avances-en-ciencias-e-ingenieria-vol-10-nro-3-ano-2019/>

6.1.2. Trabajos presentados en eventos

- 6º Encuentro Nacional de Química (ENAGUI 6). Realizado del 16 al 18 de octubre de 2019, ciudad de Montevideo, Uruguay.

"Influencia de la pérdida de peso en cortes de carne vacuna según el grado de cocción en el contenido de Cu y Zn". Suárez, A.; Panizzolo, L.; Méndez, C.; Cerminara, M.; Pistón, M. Presentado como e-poster oral.

- 15th Rio Symposium on Atomic Spectrometry. Realizado del 6 al 11 de octubre 2019, ciudad de Mendoza, Argentina.

"Selenium determination using HG-MIP OES in beef and livestock feed". Silva, J.; Belluzzi, M.; laquinta, F.; Suárez, A.; Cora Jofré, F.; Savio, M. Pistón, M.

"Comparison of alkaline methods for the extraction of Cu and Zn in beef samples". laquinta, F.; Machado, I.; Suárez, A.; Pistón, M.

- 9ª edición del Simposio Internacional de Innovación y Desarrollo de Alimentos (INNOVA). Realizado del 2 al 4 de octubre de 2019, ciudad de Montevideo, Uruguay.

"Contenido de selenio en cortes de carne vacuna según el punto de cocción". Pistón, M.; Silva, J.; Belluzzi, M.; Suárez, A.; laquinta, F.; Méndez, C.; Cerminara, M.; Panizzolo, L.

- 5to Congreso Uruguayo de Química Analítica (5CUQA). Realizado del 24 al 26 de octubre de 2018, Montevideo, Uruguay.

"Evaluación del contenido de hierro y zinc en cortes de carne vacuna de consumo popular en Uruguay". Suárez, A.; Panizzolo, L.; Méndez, C.; Cerminara, M.; Pistón, M. Presentación oral.

"Desarrollo de un método analítico para la determinación de cobre y zinc en carne bovina con preparación de las muestras en medio alcalino." laquinta, F.; Tissot, F.; Suárez, A.; Machado, I.; Pistón, M.

"Optimización de un método espectrofotométrico clásico para la determinación de hierro hemo en carne vacuna." Bühl, V.; Suárez, A.; Panizzolo, L.; Méndez, C.; Cerminara, M.; Pistón, M. "

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbaspour, N., Hurrell, R. y Kelishadi, R. (2014). Revisión sobre el hierro y su importancia para la salud humana. *Revista de Investigación en Ciencias Médicas*, 19(2), 164-174.
- Achón Tuñón M., González González M.P., Varela-Moreiras G. (2018). Criterios de armonía funcional entre gastronomía y salud: una visión desde la comunidad científica. *Nutrición Hospitalaria*, 35 (N.º Extra. 4), 75-84 DOI:<http://dx.doi.org/10.20960/nh.2131>
- Aggett. (2012) *Iron*. In: Erdman JWJ, Macdonald IA, Zeisel SH, eds. En Present Knowledge in Nutrition, 10th Edition. Capítulo 33, pags. 506-520. Editorial Wiley-Blackwell. ISBN: 978-1-119-94604-5
- Agte, V., Jahagirdar, M. y Chiplonkar, S. (2005). *Apparent absorption of eight micronutrients and phytic acid from vegetarian meals in ileostomized human volunteers*. Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.), 21(6), 678–685. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.11.007>
- Aguilera, J. M. (1997). *Fritura de Alimentos*. En: Aguilera JM (Editor). Temas en Tecnología de Alimentos. Volumen 1. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CITED). Instituto Politécnico Nacional, México: 187-21
- Alais, C. y Linden, G. (1990). *Bioquímica de los alimentos*. Masson, S. A. Barcelona.
- Alarcón-Corredor, O.M., (2009). Los elementos traza. *Revista Médica de la Extensión Portuguesa*, 3(3), 107-124
- Alberti, A., Bolognini, L., Macciantelli, D. y Caratelli, M. (2000). El catión radical de N, N-dietil-para-fenilendiamina: un posible indicador de estrés oxidativo en muestras biológicas. *Investigación sobre productos químicos intermedios*, 26(3), 253–267. doi: 10.1163 / 156856700x00769
- Albertí, P., Sañudo, C., Mendizábal, J., Ripoll, G., Olleta, J.L. y Panea B. (2003). *Characterization of seven beef breeds by principal component análisis of fatty tissue development and chemical, instrumental and sensory measurements*. 49th ICOMST, Campinas, Brasil, pp. 149-150.
- Alfaia, C., Lopez, A. y Prates, J. (2013). Cooking and Diet Quality: A Focus on Meat. *An evidence-Based Approach*, Vol. 1, New York, USA, pp. 257-248 ISBN 10.1007/978-1-4614-7339-820.
- Andrade, V. M., Aschner, M. y Marreilha Dos Santos, A. P. (2017). Neurotoxicity of Metal Mixtures. *Advances in neurobiology*, 18, 227–265. https://doi.org/10.1007/978-3-319-60189-2_12
- Annangi, B., Bonassi, S., Marcos, R., & Hernández, A. (2016). Biomonitoring of humans exposed to arsenic, chromium, nickel, vanadium, and complex mixtures of metals by using the micronucleus test in lymphocytes. *Mutation Research*, 770(Pt A), 140–161. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.03.003>
- Anton, C. (2005). *Revisión bibliográfica de color*. [En Línea]. Córdoba, Universidad de Córdoba. Disponible en <http://www.uco.es/organiza/departamentos/prod->

animal/economia/aula/img/pictorex/07_09_40_4_REVCOLOR.pdf [Fecha de Consulta 4 de Enero de 2021]

- A.O.A.C. (1995) *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 16a ed. Virginia: p. 62.
- A.O.A.C. (2002). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 17th edition. Chapter 37. p 6.
- A.O.A.C. (2003). *Métodos oficiales de análisis*. AOAC International. Edición 17 primera revisión, Arlington VA. USA.
- A.O.A.C. (2005), *Official methods of analysis*. Association of Official Analytical Chemists (N° 950.46 B). William Horwitz (ed). 13a ed. Washington.
- Assandri, E., Skapino, E., Da Rosa, D., Alemán, A. y Acuña, A.M. (2018). Anemia, estado nutricional y parasitosis intestinales en niños pertenecientes a hogares vulnerables de Montevideo. *Archivos de Pediatría del Uruguay*, 89(2), 86-98.
- Astiasarán, I. y Martínez, J.A. (2000). *Alimentos: composición y propiedades*. McGraw-Hill Interamericana. Madrid.
- Astiasarán, I., Laceras, B., Ariño, A. y Martínez, A. (2003) *Alimentos y nutrición en la práctica sanitaria*. Díaz de Santos. Madrid.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos* (4ª edición). [En Línea] Pearson Educación, México. ISBN 970-26-0670-5. <http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/3608> [Fecha de Consulta 20 de Enero de 2021]
- Barbarán E. y Vela D. (2016). El zinc: un elemento esencial para la vida. *Agenda Viva*, 1, 14-19. Recuperado de <https://revistas.ulima.edu.pe/index.php/AgendaViva/article/view/947/899>
- Barbosa J., Santos C., Peralva V., Flores E., Korn M., Nóbrega J. (2015). Microwave-assisted diluted acid digestion for trace elements analysis of edible soybean products. *Food Chemistry*, 175, 212-217.
- Barceloux D.G. (1999). *Copper*. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 37(2), 217-30. doi: 10.1081/clt-100102421. PMID: 10382557.
- Bejerholm, C. y Aaslyng, M. (2004). *The influence of cooking technique and core temperature on results of a sensory analysis of pork - Depending on the raw meat quality*. *Food Quality and Preference*, 15, 19-30. 10.1016/S0950-3293(03)00018-1.
- Bell, S., Becker, W., Vásquez-Caicedo, A. L., Hartmann, B. M., Moller, A., y Buttriss, J. (2006). Report on Nutrient Losses and Gains Factors used in European food composition databases. *European food information resource network*
- Bellmann, O., Wegner, J., Teuscher, F., Schneider, F. y Ender, K. (2004). Muscle characteristics and corresponding hormone concentrations in different types of cattle, *Livestock Production Science*, 85(1), 45-57, ISSN 0301-6226, [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(03\)00121-0](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00121-0).

- Bello Gutiérrez, J. (2000). *Ciencia bromatológica*. Principios generales de los alimentos. Díaz de Santos (Ed.). Madrid.
- Bello Gutiérrez, J. (2005). *Calidad de vida, alimentos y salud humana*.
- Bender, D.A. (1995). *Introducción a la nutrición y al metabolismo*. Acribia. Zaragoza.
- Bergström, L. (1994). Nutrient losses and gains in the preparation of foods. Report 32. Uppsala, Suecia, *National Food Administration*.
- Beriain, M. J., Sanchez, M. y Carr, T.R. (2009). A comparison of consumer sensory acceptance, purchase intention, and willingness to pay for high quality United States and Spanish beef under different information scenarios. *Journal Animal Science*, 87, 3392-3402.
- Biesalski, H.K. (2005). La carne como componente de una dieta saludable: ¿existen riesgos o beneficios? *Meat Science*, 70, 509-524.
- BIPM. (2003). *The International System of Units (SI)*. [En Línea] Oficina Internacional de Pesas y Medidas (disponible en inglés en <http://www.bipm.org/en/si/> y en francés en <http://www.bipm.org/fr/si/>). [Fecha de Consulta 20 de Enero de 2021]
- Boccard, L., Buchter, E., Casteels, E., Cosentino, E., Dransfield, D.E., Hood, R.L., Joseph, D.B., MacDougall, D.N., Rhodes, I., Schön, B.J., Tinbergen, C. y Touraille. (1981). Procedures for measuring meat quality characteristics in beef production experiments. Report of a working group in the commission of the European communities' (CEC) beef production research programme, *Livestock Production Science*, 8(5), 385-397, ISSN 0301-6226, [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(81\)90061-0](https://doi.org/10.1016/0301-6226(81)90061-0).
- Boccio, J., Salgueiro, J., Lysionek, A., Zubillaga, M., Goldman, C., Weill, R., y Caro, R. (2003). Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 53(2), 119-132. Recuperado en 13 de enero de 2021, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222003000200002&lng=es&tlng=pt.
- Bognár, A. (1998). Comparative study of frying to other cooking techniques influence on the nutritive value. *Grasas y Aceites*. 49, 250-260.
- Bognár, A. y Piekarski, J. (2000). Guidelines for recipe information and calculation of nutrient composition of prepared foods (dishes). *Journal of Food Composition and Analysis*, 13(4), 391–410.
- Bognár, A. (2002). *Tables on weight yield of food and retention factors of food constituents for the calculation of nutrient composition of cooked foods (dishes)*. Federal Research Centre for Nutrition. Institute of Chemistry and Biology. http://www.fao.org/uploads/media/bognar_bfe-r-02-03.pdf

- Bruné, V., Pioda, C., Viera, I., Irigoyen, J., Dol, I., Facchin, G., Pistón, M., Torre, M. (2013). Grass as a biomonitor: impact of copper supplementation in the environment. *Brazilian Journal of Analytical Chemistry*, 9, 410-415.
- Bühl, V., Suárez, A., Panizzolo, L., Méndez, C., Cerminara, M., Pistón, M. (2019). Optimización de un método espectrofotométrico clásico para la determinación de hierro hemo en carne vacuna. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 10(3), 33-40. ISSN: 07188706 (Indizado en Latindex) <http://www.executivebs.org/publishing.cl/avances-en-ciencias-e-ingenieria-vol-10-nro-3-ano-2019-articulo-4/>
- Cabrera, M.C., del Puerto, M., Barlocco, N. y Saadoun, A. (2007) Caracterización del color y del contenido de Fe hemínico de los M. Longissimus dorsi y Psoas major frescos y madurados en el cerdo pampa-rocha y cruzas en un sistema en base a pastura. *Agrociencia*. Volumen Especial, IX Encuentro de Nutrición y Producción de Animales Monogástricos, p. 105-108.
- Cabrera, M., Ramos, A., Saadoun, A. y Brito, G. (2010). Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from Hereford and Braford steers fed pasture in Uruguay. En: *Meat Science*, 84(3), 518–528. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.10.007>.
- Cabrera, M. y Saadoun, A. (2014). An overview of the nutritional value of beef and lamb meat from South America. *Meat Science*. 98. [10.1016/j.meatsci.2014.06.033](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.033).
- Campo, M., Olleta, E., Moreno, L., Santaliestra-Pasías, A., Mesana, M. y Sañudo, C. (2013). Influence of cooking method on the nutrient composition of Spanish light lamb. En: *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(2), 185–190. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.05.010>.
- Carchipulla, J. y Torres, E. (2017). *Evaluación de los factores de ganancia y/o pérdida de nutrientes por cocción en los alimentos preparados de la base de composición de alimentos locales de la ciudad de Cuenca* [Archivo pdf]. Repositorio Institucional de la Universidad de Cuenca. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28515/1/Trabajo%20de%20titulaci%C3%B3n.%20Evaluaci%C3%B3n%20de%20los%20factores%20de%20ganancia%20o%20p%C3%A9rdida%20de%20nutrientes%20por%20cocción%20en%20la%20base%20de%20alimentos~1.pdf> [Fecha de Consulta 20 de Enero de 2021]
- Castro, N. y Moreno, R. (2004). Biosíntesis del grupo hemo. *Revista de Educación Bioquímica*, 23(3), 99-106. ISSN 1665-1995. http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2004/09/99-106_NORMA%20ANGELICA%20CASTRO.pdf
- Catálogo de Información Agropecuaria Biblioteca INIA, (2019). *40 años de relacion con Hereford*, [En Línea] <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/13242/1/Anuario-Hereford-2019-p.32-38.A.Calistro.pdf> [Fecha de Consulta 4 de Enero de 2021]

- Cervera, P., Clapés, J. y Rigolfas, R. (2004). *Alimentación y dietoterapia*. 4ª ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid.
- Charrondiere, U. R. y Burlingame, B. (2011). Report on the FAO/INFOODS Compilation tool: a simple system to manage food composition data. *Journal of Composition and Analysis*, 24, 711-715. doi: 10.1016/j.jfca.2010.09.006
- Cheftel, J. G., Cheftel, H. y Besançon, P. (2000). *Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos*. Vol. I y II. Acribia. Zaragoza.
- Christensen, M., Purslow, P. P. y Larsen, L. M. (2000). The effect of cooking temperature on mechanical properties of whole meat, single muscle fibres and perimysial connective tissue. *Meat Science*, 55(3), 301–307. [https://doi.org/10.1016/s0309-1740\(99\)00157-6](https://doi.org/10.1016/s0309-1740(99)00157-6)
- Ciudad Reynaud, A. (2014). Requerimiento de micronutrientes y oligoelementos. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*, 60(2), 161-170. Recuperado en 10 de enero de 2021, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-51322014000200010&lng=es&tlng=es.
- Codex Alimentarius. http://www.codexalimentarius.net/web/index_es.jsp [En Línea] [Fecha de Consulta 22 de Enero de 2021]
- Combes S., Lepetit J., Darche B. y Lebas F. (2003). Effect of cooking temperature and cooking time on Warner-Bratzler tenderness measurement and collagen content in rabbit meat. *Meat science*, 66, 91-96.
- Consejo Europeo de Información Alimentaria. [En Línea] <http://www.eufic.org> [Fecha de Consulta 2 de Febrero de 2021]
- Consejo Internacional de Información Alimentaria. [En Línea] <http://www.ific.org> [Fecha de Consulta 17 de Febrero de 2021]
- Costas, G., Herrera, V. y Correa, C. (2010). *Principales indicadores y determinantes de consumo de carnes en Uruguay: cierre año 2009*. Instituto Nacional de Carnes, Direccion de Contralor del Mercado Interno. Montevideo, Uruguay.
- Costas, G., Herrera, V. y Correa, C. (2010). *Principales indicadores y determinantes de consumo de carnes en Uruguay : cierre año 2009*. Instituto Nacional de Carnes, Direccion de Contralor del Mercado Interno. Montevideo, Uruguay.
- Del Puerto, M., Cabrera, M.C. y Saadoun, A. (2007) Variaciones de color, pH y Fe hemínico en la carne de ave fresca en función del tipo de músculo y del sistema de producción. *Agrociencia*. Volumen Especial, IX Encuentro de Nutrición y Producción de Animales Monogástricos, p. 109-114
- Deleuze, P. (2003). *Código Alimentario Español*. 6ª ed. Tecnos. Madrid.
- Departamento de Agricultura de EEUU. A. [En Línea] <http://www.nal.usda.gov/fnic/index.html> [Fecha de Consulta 2 de Marzo de 2021]

- Departamento de Agricultura de EEUU. B. [En Linea]http://www.usda.gov/wps/portal/!ut/p/_s.7_0_A/7_0_1OB?navtype=SU&navid=FOOD_NUTRITION [Fecha de Consulta 2 de Marzo de 2021]
- Departamento de Agricultura de EEUU (1999). *Cook It! Temperatura de cocción. Información sobre seguridad alimentaria.* [En Linea]<https://web.archive.org/web/20070615043408/http://www.foodsafety.gov/~fsg/fs-cook.html> [Fecha de Consulta 2 de Marzo de 2021]
- Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Servicio de Investigación Agrícola. (2012). *Tabla de USDA de Rendimientos de cocción para carnes y aves.* [En Linea] Página de inicio del laboratorio de datos de nutrientes:<http://www.ars.usda.gov/nutrientdata> [Fecha de Consulta 2 de Marzo de 2021]
- Departamento de Agricultura de EEUU. (2020). *Tabla de temperatura interna mínima segura.* [En Linea]. Disponible en <https://www.fsis.usda.gov/safetempchart> [Fecha de Consulta 2 de Marzo de 2021]
- Departamento de Agricultura de EEUU - Centro de Política y Promoción de la Nutrición. [En Linea] <http://www.usda.gov/cnpp/> [Fecha de Consulta 2 de Marzo de 2021]
- Departamento de cultura de los Estados Unidos, Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos. (2008). *Cocinando para grupos: Guía de Inocuidad Alimentaria para Voluntarios.* [En Linea]https://www.fsis.usda.gov/shared/PDF/Cooking_for_Groups_SP.pdf [Fecha de Consulta 12 de Febrero de 2021]
- Domínguez, R., Borrajo, P. y Lorenzo, J. (2015). The effect of cooking methods on nutritional value of foal meat. En: *Journal of Food Composition and Analysis*, 43, 61–67.<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.04.007>.
- Dransfield, E. y Rhodes, D.N. (1976), Effect of post-rigor muscle length on the texture of meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 27, 483-486.<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740270516>
- Dransfield, E. (1977), Composición intramuscular y textura de los músculos de la carne de res. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28, 833-842.<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740280910>
- Dunne, P.G., Rogalski, J., Moreno, T., Monahan, F.J., French, P. y Moloney, A.P. (2008). Colour, composition and quality of m. longissimus dorsi and m. extensor carpi radialis of steers housed on straw or concrete slats or accommodated outdoors on wood chips. *Meat Science*, 79, 700-708.
- Dusek, P., Roos, P. M., Litwin, T., Schneider, S. A., Flaten, T. P. y Aaseth, J. (2015). The neurotoxicity of iron, copper and manganese in Parkinson's and Wilson's diseases. *Journal of Trace Elements in*

- Medicine and Biology: Organ of the Society for Minerals and Trace Elements* (GMS), 31, 193–203. <https://doi.org/10.1016/j.itemb.2014.05.007>
- Edens Hurst, A. C. y Zieve, D. (2018). *Enfermedad de Wilson*. Mediline Plus (Biblioteca Nacional de Medicina de los EEUU). Visitado el 11 de Enero de 2021. <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000785.htm>
- Escott-Stump, S. (2005). *Nutrición, diagnóstico y tratamiento*. Díaz de Santos. Madrid.
- Escudero Álvarez, E. y González Sánchez, P.. (2006). La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*, 21(Supl. 2), 61-72. Recuperado en 10 de enero de 2021, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112006000500007&lng=es&tlng=es.
- FACTUM. (2019). *Percepción del consumidor de carne vacuna en Uruguay* [Archivo PDF]. <http://www.inac.uy/innovaportal/file/17509/1/estudiouy.pdf>
- FAO/INFOODS. (2012). *FAO/INFOODS Guidelines for checking food composition data prior to the publication of the user table/Database-version 1.0*. FAO, Rome
- FAO/OMS. 1992. *Conferencia Internacional sobre Nutrición* (ICN) 92 / 2 Rev.3. [En Línea] Disponible en www.fao.org/docrep/V7700T/v7700t04.htm
- FAO/OMS. (2002) Necesidades humanas de vitaminas y minerales. Informe de una consulta conjunta de expertos FAO / OMS. Disponible en : <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/004/y2809e/y2809e00.pdf>
- FAO/OMS (2003). *Informe sobre dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas*. Roma. [En Línea] Disponible en: www.fao.org/WAIRDOCS/OMS/AC9115/AC911500.HTM [Fecha de Consulta 2 de Febrero de 2021]
- FAO/UNU. (1994). *Discussions on Food Composition Data for Developing Countries*. Tunis 21-24. [En Línea] Disponible en www.fao.org/docrep/V6000t/v6000t02.htm [Fecha de Consulta 2 de Febrero de 2021]
- Farfán, N. y Sammán, N. (2003). Retention of nutrients in processed cuts of Creole cattle, *Journal of Food Composition and Analysis*, 16(4), 459-468. ISSN 0889-1575, [https://doi.org/10.1016/S0889-1575\(03\)00006-1](https://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00006-1).
- Faustman, C. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat; a review. *Journal of Muscle Foods*. (1), 217-243.
- Fennema, O. R., Damodaran, S. y Parkin, K. L. (2008). *Fennema Química de los alimentos*: Editado por Srinivasan Damodaran, Kirk L. Parkin y Owen R. Fennema (3a. ed.). Barcelona: Acribia. ISBN: 9788420011424
- Ferri F. (2018). *Wilson's disease*. In: Ferri FF, ed. *Ferri's Clinical Advisor*. Philadelphia. Elsevier; 1479.e9-1479.e10.

- Finberg K. E. (2011). Unraveling mechanisms regulating systemic iron homeostasis. *Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 2011, 532–537. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2011.1.532>
- Finch, C., Deubelbliss, K., Cook, J., Eschbach, J., Harker, L., Funk, D., Marsaglia, G., Hillman, R.S., Slichter, S., Adamson, J., Canzoni, A. y Giblett, E.R. (1970). Ferrokinetics in man. *Medicine*, 49, 17-53.
- Fleming, M. (2015) *Disorders of Iron and Copper Metabolism, the Sideroblastic Anemias, and Lead Toxicity*. Orkin SH, Fisher DE, Ginsburg D, Look T, Lux SE, Nathan DG (Ed.), Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders. ISBN: 9781455754144 <http://www.foodnetbase.com/> [En Línea] [Fecha de Consulta 10 de Febrero de 2021]
- Food Safety. (2019) *Tablas de temperaturas mínimas de cocción segura*. [En Línea] FoodSafety.gov. <https://espanol.foodsafety.gov/es/node/10> [Fecha de Consulta 10 de Febrero de 2021]
- Forrellat Barrios, M., Gautier du Défaix Gómez, H. y Fernández Delgado, N. (2000). Metabolismo del hierro. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 16(3), 149-160. Recuperado en 29 de diciembre de 2020, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892000000300001&lng=es&tlng=es.
- Forrellat Barrios, M. (2016). Iron metabolism regulation: two systems, one goal. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 32(1), 4-14. Recuperado en 13 de enero de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892016000100002&lng=es&tlng=en.
- Fujiwara, T., y Harigae, H. (2015). Biology of Heme in Mammalian Erythroid Cells and Related Disorders. *BioMed research international*, 278536. <https://doi.org/10.1155/2015/2785364>.
- Gaitán C. D., Olivares G, M., Arredondo O, M., y Pizarro A, F. (2006). Biodisponibilidad de hierro en humanos. *Revista Chilena de Nutrición*, 33(2), 142-148. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182006000200003>
- Gandemer, G., Scisiowski, V., Portanguen, S. y Kondjoyan, A. (2020). El impacto de cocinar carne de res en el suministro de hierro hemo y no hemo para los seres humanos. *Ciencias de la alimentación y la nutrición*, 11, 629-648. ISSN 2157-9458
- García, G.C., Duarte, H.J., Moncada, L.M. y Gualdrón, L. (2005). Determinación del tiempo de cocción en los procesos de freído y horneado de tres alimentos de consumo masivo en Colombia. *Epsilon*, 4, 7-18.
- Gil Hernandez, A. (ed.) (2005). Tratado de Nutrición (4 vol.). *Acción Médica*. Madrid.

- Gil Hernandez, A. (2010). *Tratado de nutrición*. (2° edición). Editorial Médica Panamericana
- Giuffrida-Mendoza, M., Arenas de Moreno, L., Uzcátegui-Bracho, S., Rincón-Villalobos, G., y Huerta-Leidenz, N. (2007). Mineral content of longissimus dorsi thoracis from water buffalo and Zebu-influenced cattle at four comparative ages. *Meat Science*, 75(3), 487–493. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.08.011>
- González, P., Caneiro B., 2013. Alteraciones de la matriz extracelular del tejido conectivo en el proceso de herniogenesis inguinal. *Revista Hispanoamericana de Hernia*. 1 (1), pp. 27-36.
- González-Pérez, M., Gómez-Pérez, J. A., Otero-Cabrera, Y. y Revilla-Fernández, Y. (2016). Diseño de un procedimiento para la obtención y caracterización de disoluciones de Hemo purificadas. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 47(3), 129-137. [Fecha de Consulta 5 de Enero de 2021]. ISSN: 0253-5688. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=1812/181246975001>
- González Urrutia, Rocío. (2005). Biodisponibilidad del hierro. *Revista Costarricense de Salud Pública*, 14 (26), 6-12. Obtenido el 17 de marzo de 2021 de http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-14292005000100003&lng=en&tIng=es.
- Goran G., Tudoreanu L., Rotaru E. y Crivineanu V. (2016). Comparative study of mineral composition of beef steak and pork chops depending on the thermal preparation Method. *Meat Science*, 118, 117-121. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.031>
- Gossi, S., Luaces, M. y Olivera, V. (2010). *Estudio comparativo de la producción de ganado vacuno con tecnología tradicional con la producción en base a la tecnología feedlot*. Tesis de Grado, Universidad de la República.
- Gozzelino, R. y Arosio, P. (2016). Homeostasis del hierro en la salud y la enfermedad. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares*, 17(1), 130. <https://doi.org/10.3390/ijms17010130>
- Grajales-Lagunes, A., Ruiz-Cabrera, M.A., Lepetit, J. y Favier, R. (2007). Cambios mecánicos, estructurales y geométricos provocados por la contracción al frío en carne cocida. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(1), 11-17. [Fecha de Consulta 4 de Enero de 2021]. ISSN: 1665-2738. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=620/62060102>
- Grande F., Deflache N., Dahdouh S., Charrondiere Cl., Vincent A., Gibson R., Longvah T., Rajendran A., Judprasong K., Puwastien P., Sivakumaran S. y Charrondiere R. (2017). *Nutrient retention factors for recipe/cooked dishes calculation purposes*. 12th International Food Composition Data Conference. Buenos Aires, Argentina
- Grantham, S. y Ani, C. (2001). A review of studies on the effect of iron deficiency and cognitive development in children. *Journal of Nutrition*, 131(2), 649S-668S.
- Greenfield, H. (2003). *Datos de composición de alimentos: Obtención, gestión y utilización*. [En Línea] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la

- Alimentación.http://www.fao.org/uploads/media/Greenfield_and_Southgate_Spanish_02.pdf
[Fecha de Consulta 2 de Marzo de 2021]
- Guía de sana alimentación y actividad física para Puerto Rico. Comisión de alimentación y nutrición de Puerto Rico.* [En Línea]<https://alimentacionynutricionpr.org/guia-alimentaria/#fb0=1> [Fecha de Consulta 22 de Enero de 2021]
- Haas, J. y Brownlie, T. (2001). Iron deficiency and reduced work capacity: a critical review of the research to determine a causal relationship. *Journal of Nutrition*, 131(2S-2), 676S- 690S.
- Hereford Uruguay. *Standard Hereford*. [En línea] [Consultado: 22 de febrero de 2021] Disponible en https://www.hereford.org.uy/raza/la_raza
- Hernández Triana, M. (2004). Recomendaciones nutricionales para el ser humano: actualización. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 23(4), 266-292. Recuperado en 13 de enero de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002004000400011&lng=es&tlng=es
- Herrera, B., Alejandro, A. y Peláez, E. (2019). *Efecto del tiempo y temperatura de cocción de la carne sobre los resultados de dureza de la prueba de Warner Bratzler*. Universidad Nacional de Chimborazo. URI<http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/6150>
- Higdon, J. (2001). *Hierro*. Oregon State University, Linus Pauling Institute. [En Línea] Última Actualización Agosto 2016 por Delage, B. [Fecha de Consulta 13 de Enero de 2021]<https://lpi.oregonstate.edu/es/mic/minerales/hierro#sobrecarga-hierro>
- Hintze, K.J., Lardy, G P., Marchello, M.J. y Finley, J.W. (2002). Selenium accumulation in beef: Effect of dietary selenium and geographical area of animal origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3938–3942
- Horcada, A. y Polvillo, O. (2010) *Conceptos básicos sobre la carne*. En Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura y Pesca (Ed.), *La producción de carne en Andalucía*, págs. 113-140. España. ISBN 987-84-8474-287-6
- Hormel Foods. *Cocción de la carne*. [En Línea]<https://web.archive.org/web/20070930185251/http://www.hormel.com/templates/knowledge/knowledge.asp?catitemid=20&id=390> [Fecha de Consulta 10 de Febrero de 2021]
- Hornsey, HC (1956), El color del cerdo curado cocido. I. — Estimación de los pigmentos de óxido nítrico-Haem. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 7, 534-540.<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740070804>
- Huerta-Leidenz, N., Arenas De Moreno, L., Fuenmayor, O. y Uzcátegui-Bracho, S. (2003). Composición mineral del músculo longissimus crudo derivado de canales bovinas producidas y clasificadas en Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 53, 96-101.

- Hurrell, R. y Egli, I. (2010). Iron bioavailability and dietary reference values. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91(5), 1461S–1467S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.28674F>
- ICBF, (1996). *Contenido y pérdida de nutrientes en alimentos*. En: Tabla de Composición de Alimentos Colombianos. Séptima edición, Grupo Administración de Impresos de la División de Recursos Físicos, Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. Bogotá DC: 95-100.
- Instituto Nacional de Carnes, Dirección de Control y Desarrollo de Calidad. (2002, actualizada 2009 y 2012). [En Línea] Algunas definiciones prácticas [Archivo pdf]. https://www.inac.uy/innovaportal/file/6351/1/algunas_definiciones_practicas.pdf [Fecha de Consulta 20 de Febrero de 2021]
- Instituto Nacional de Carnes (INAC), (2006). *Handbook of uruguayan meat* [En línea]. Montevideo: Instituto Nacional de Carnes [Consulta: 19 de enero de 2021]. Disponible en: https://www.inac.uy/innovaportal/file/2043/1/manual_corregido_2a_edicion.pdf
- Instituto Nacional de Carnes. (2009). [En Línea] *La experiencia de Uruguay en trazabilidad bovina*. http://www.inac.uy/innovaportal/file/5046/1/libro_trazabilidad_espanol_con_tapa_definitivo.pdf [Fecha de Consulta 20 de Febrero de 2021]
- Instituto Nacional de Carnes (2010). *Conociendo las preferencias de consumo de carnes en Uruguay*. [En Línea] https://www.inac.uy/innovaportal/file/7365/1/conociendo_las_preferencias_de_consumo.pdf [Fecha de Consulta 20 de Febrero de 2021]
- Instituto Nacional de Carnes (2017a). *Principales Indicadores y determinantes del consumo de carnes - Cierre 2017*. [En Línea] Instituto Nacional de Carnes, Montevideo, Uruguay. Sitio web: <https://www.inac.uy/innovaportal/file/16196/1/informe-consumo-de-carnes-mercado-domestico---cierre-2017-vf.pdf> [Fecha de Consulta 20 de Febrero de 2021]
- Instituto Nacional de Carnes, (2017b). [En Línea] *Protocolo de carne natural certificada del Uruguay*. <https://www.inac.uy/innovaportal/file/10075/1/protocolo-pcncu-v3.pdf> [Fecha de Consulta 20 de Febrero de 2021]
- Instituto Nacional de Carnes. (2019a). [En Línea] *Consumo de carnes* [archivo pdf]. <http://www.inac.uy/innovaportal/file/18275/1/consumo-de-carnes-2019.pdf> [Fecha de Consulta 20 de Febrero de 2021]
- Instituto Nacional de Carnes. (2019b) *EEUU: oportunidad para carne a pasto limitada por restricción arancelaria*. [En Línea] <http://www.inac.uy/innovaportal/v/18583/4/innova.front/eeuu:-oportunidad-para-carne-a-pasto-limitada-por-restriccion-arancelaria> [Fecha de Consulta 20 de Febrero de 2021]

- Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (2004). *Producción de carne bovina: Engorde Intensivo (Engorde a corral - Feedlot)*. [En Línea]<http://www.inia.org.uy/prado/2004/engorde%20a%20corral.htm> [Fecha de Consulta 20 de Febrero de 2021]
- Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, (2006). *Ganadería en Uruguay*. [En Línea]http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/ara/ara_192.pdf [Fecha de Consulta 20 de Febrero de 2021]
- Instituto de Investigación Agropecuaria (2014). *Intensificando la suplementación de bovinos en pastoreo*. [En Línea]http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/revista_INIA_36_Rovira.pdf [Fecha de Consulta 21 de Febrero de 2021]
- Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. (2020). *29 de Mayo - Día nacional de la carne* [Archivo pdf.]. [En Línea]<http://www.inia.uy/Documentos/P%C3%BAblicos/INIA%20Tacuaremb%C3%B3/2020/29%20de%20mayo%20d%C3%ADa%20nacional%20de%20la%20carne/D%C3%8DA%20NACIONAL%20DE%20LA%20CARNE%20-%2029.05.2020.pdf> [Fecha de Consulta 21 de Febrero de 2021]
- Jacob, H.R., D'Antuono, F.M., Gilmour, R.A. y Warner, D.R. (2014). Phenotypic characterisation of colour stability of lamb meat. *Meat Science*, 96, 1040-1048.
- Johnston CS. (2012) *Vitamin C*. In: Erdman JWJ, Macdonald IA, Zeisel SH, eds. *Present Knowledge in Nutrition*, 10th Edition. Capítulo 16, pags. 248-260. Editorial Wiley-Blackwell. ISBN: 978-1-119-94604-5
- Kalpalathika, P.V.M., Clark, E.M. y Mahoney, A.W. (1991). Heme iron content in selected ready-to-serve beef products. *Revista de Química Agrícola y Alimentaria*, 39(6), 1091-1093 DOI: 10.1021/jf00006a017.
- Klensin, J.C., Feskanich, D., Lin, V., Truswell, A.S. y Southgate, D.A.T. (1989). *Identification of food components for INFOODS data interchange*. Tokyo, United Nations University Press (disponible en inglés en <http://www.unu.edu/unupress/unupbooks/80734e/80734E00.htm>)
- Krug, F.J. (Ed). (2008). *Métodos de preparo de amostras. Fundamentos sobre preparo de amostras orgánicas e inorgánicas para análise elementar*. 1ª Edición, Piracicaba. ISBN 978-85-908105-0-6
- Kuehl, R. (2001). *Diseño de experimentos*. Segunda Edición. Thomson Learning. México. 6663 pp.
- Kuklinski, C. (2003). *Nutrición y Bromatología*. Omega. Barcelona.

- Kumar, S. y Aalbersberg, B. (2006). Nutrient retention in foods after earth-oven cooking compared to other forms of domestic cooking. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 302-310. Recuperado de <http://www.elsevier.com/locate/jfca>
- Lanfranco, B. y Rava, C. (2014). *Los cambios en los patrones de consumo de carnes en el mercado interno*, Serie Técnica 198302. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). DOI:10.13140/2.1.4201.5528
- Lee, B.J., Hendricks, D.G. y Cornforth, D.P. (1998). Antioxidant Effects of Carnosine and Phytic Acid in a Model Beef System. *Journal of Food Science*, 63(3), 394-398.
- Lehninger, A. L.; Nelson, D. L. y Cox, M. M. (2005) *Estructura tridimensional de las proteínas*. En Lehninger, A. L.; Nelson, D. L.; Cox, M. M., Principios de Bioquímica, 4a. Ed, España, Editorial Omega S.A., p. 159 – 202.
- Lepetit, J., y Culioli, J. (1994). Mechanical properties of meat. *Meat Science*, 36(1-2), 203–237. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(94\)90042-6](https://doi.org/10.1016/0309-1740(94)90042-6)
- Llanos, R. M. y Mercer, J. F. (2002). The molecular basis of copper homeostasis copper-related disorders. *DNA and Cell Biology*, 21(4), 259–270. <https://doi.org/10.1089/104454902753759681>
- Lombardi-Boccia, G., Martínez, B. y Altero, A. (2002a). Total Heme and Non-heme Iron in Raw and Cooked Meats. *Journal of Food Science*, 67, 1738 - 1741. 10.1111/j.1365-2621.2002.tb08715.x.
- Lombardi-Boccia, G., Martínez-Domínguez, B., Aguzzia, A. y Rincón-León, F. (2002b). Optimization of heme iron analysis in raw and cooked red meat. *Food Chemistry*, 78, 505-510.
- Lombardi-Boccia, G., Lanzi, S. y Aguzzi, A. (2005). Aspects of meat quality: trace elements and B vitamins in raw and cooked meats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(1), 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2003.10.007>.
- Lopes, A., Alfaia, C., Partidário, A., Lemos, J. y Prates J. (2015). Influence of household cooking methods on amino acids and minerals of Barrosã-PDO veal. *Meat Science*, (99), 38–43. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.08.012>.
- López de Romaña, D., Castillo D, Carlos, y Diazgranados, D. (2010). El zinc en la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 37(2), 234-239. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182010000200013>
- Ministerio de Agroindustria. (2016). *Manual de carnes y huevo: Usos y preparaciones culinarias para el aprovechamiento de la proteína animal*. [En Línea] <http://www.ciap.org.ar/Sitio/Archivos/Manual%20de%20Carnes%20y%20Huevo.pdf> [Fecha de Consulta 22 de Febrero de 2021]

- Magnusson, B. y Örnemark, U., (2014). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. Segunda Edición. ISBN: 978-91-87461-59
- Mancini, R. A. y Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71, 100-121.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. [En Línea] <http://www.mapa.es/> [Fecha de Consulta 22 de Febrero de 2021]
- Marcoe, K. (2009). *Recipe Calculations-Nutrient Retention Factor Method*.
- Martíáñez Rodríguez, J. y Herrero Huerta, E. (2011). Oligoelementos y percepción sensorial. *Nutrición Hospitalaria*, 4(2), 2-13. [Fecha de Consulta 10 de Enero de 2021]. ISSN: 0212-1611. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=3092/309226781004>
- Martínez, Ramos y Méndez, A. (2018) La lectura de etiquetas de información nutrimental. *Revista Mexicana de Pediatría*, 85 (5), 157-161.
- Mason, J.B. (2016). *Vitamins, trace minerals, and other micronutrients*. In: Goldman L, Schafer AI, eds. *Goldman-Cecil Medicine*. 25th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders, chap 218
- Massart, D.L., Vandeginste, B.G.M., Buydens, L.M.C., De Jong, S., Lewi, P.J. y Smeyers-Verbeke, J. (1998). *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics*. Volumen 20. Part A., Capítulo 24, pp. 701-737. Amsterdam: Elsevier Science.
- Mataix, J. (2005). *Nutrición para educadores*. 2ª ed. Díaz de Santos. Madrid
- Mataix, J. (2009). *Nutrición y alimentación humana*. Vol. I y II. 2ª ed. Ed. Ergon, Madrid
- McGee, H. (2017). *La Cocina y los Alimentos: Enciclopedia de la Ciencia y la Cultura de la Comida*. Penguin Random House Grupo Editorial España. ISBN: 9788483067444.
- McNeill, S. y Van Elswyk, M. (2012). Red meat in global nutrition. *Meat Science*, 92(3), 166-173. ISSN 0309-1740. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.03.014>.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, (2016). *Resultado de la encuesta ganadera nacional 2016*. [En Línea] <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/estadisticas/resultados-encuesta-ganadera-nacional-2016> [Fecha de Consulta 2 de Marzo de 2021]
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, (2017). *Animales registrados por raza*. [En Línea] <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/datos/animales-registrados-razas> [Fecha de Consulta 24 de Febrero de 2021]
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, (2020). *Anuario estadístico agropecuario 2020*. [En Línea] <https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2020/ANUARIO2020.pdf> [Fecha de Consulta 24 de Febrero de 2021]

- Miján de la Torre, A. (2010). *Técnicas y métodos de investigación en nutrición humana*. Editorial Glosa. Barcelona. pp. 65; 69.
- Miller, J.N., Miller, J.C. (2010). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry* (6th Ed). Gosport. Ashford Colour Press Ltd., UK.
- Moncada, L.M. y Gualdrón, L. (2005). *Evaluación de la pérdida de nutrientes por cocción, freído y horneado de tres alimentos de consumo frecuente en la población colombiana*. Informe Técnico científico, Universidad De La Salle. Bogotá DC. pág. 111.
- Moncada, L.M. y Gualdrón, L. (2006). Retención de Nutrientes en la cocción, freído y horneado de tres alimentos energéticos. *Revista de investigación*, 6(002), 179-187. Universidad La Salle. Bogotá Colombia.<https://www.redalyc.org/pdf/952/95260205.pdf>
- Monsen E.R., Hallberg L., Layrisse M., Hegsted D.M., Cook J.D., Mertz W., y cols. (1978). Estimation of available dietary iron. *The American Journal of Clinical Nutrition*; 31(1), 134-41.
- Monsen ER, Cook JD. (1976) Food iron absorption in human subjects. IV. The effects of calcium and phosphate salts on the absorption of nonheme iron. *The American Journal of Clinical Nutrition*; 29(10):1142-8.
- Montossi, F y Sañudo, C (Ed.). (2007). COOPERACIÓN HISPANO – URUGUAYA *Diferenciación y Valorización de la Carne Ovina y Bovina del Uruguay en Europa: Influencia de Sistemas de Producción sobre Bienestar Animal, Atributos Sensoriales, Aceptabilidad y Percepción de Consumidores y Salud Humana*. Editado por la Unidad de Comunicación y Transferencia de Tecnología del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). ISBN: 978-9974-38-2398
- Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. [En Línea]<http://www.msc.es/ciudadanos/proteccionSalud/home.htm> [Fecha de Consulta 24 de Febrero de 2021]
- Ministerio de Salud Pública. (2016). *Guía Alimentaria para la Población Uruguaya* [Archivo Pdf]. [En Línea]https://www.paho.org/uru/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=publications&alias=516-guia-alimentacion-2016-6&Itemid=307 [Fecha de Consulta 24 de Febrero de 2021]
- National Research Council (US) *Subcommittee on the Tenth Edition of the Recommended Dietary Allowances*. (1989). Recommended Dietary Allowances: 10th Edition. National Academies Press (US).
- NIST. 2003b. Standard reference materials (disponible en <http://ts.nist.gov/ts/htdocs/230/232/232.htm>). NIST. 2003b. *NIST reference on constants, units, and uncertainty* [En Línea] (disponible en <http://physics.nist.gov/cuu/Units/index.html>). [Fecha de Consulta 25 de Febrero de 2021]

- Noguera, F. (2018). *Principios de la preparación de alimentos*. Uruguay: Universidad de la República. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/21084> ISBN 978-9974-0-1585-2
- Nutrient Data Laboratory, Beltsville Human Nutrition Research Center., Agricultural Research Service., U. S. Department of Agriculture. (2007). *USDA Table of Nutrient Retention Factors* (6ta ed.). Beltsville, Maryland. [En Línea] Disponible en <https://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/80400525/Data/retn/retn06.pdf> [Fecha de Consulta 2 de Marzo de 2021]
- Obuz, E., Dikeman, M.E. y Loughin, T.M. (2003). Effects of cooking method, reheating, holding time, and holding temperature on beef longissimus lumborum and biceps femoris tenderness. Contribution no. 03-15-J from the Kansas Agricultural Experiment Station., *Meat Science*, 65(2), 841-851. ISSN 0309-1740, [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00289-9](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00289-9).
- O'Donnell, A. y Carmuega, E. (2001). Boletín CESNI. Volumen 10. *El zinc y el cobre en la nutrición infantil*. CESNI (Centro de Estudios de Nutrición Infantil). Argentina.
- Oliver, M.A.; Nute, G.R.; Font I Furnols, M.; San Julián, R.; Campo, M.M.; Sañudo, C.; Cañequé, V.; Guerrero, L.; Alvarez, I.; Diaz, M.T.; Branscheid, W.; Wicke, M. y Montossi, F. (2006). Eating quality of beef from different producing systems, assessed by German, Spanish and British consumers. *Meat Science*, 74, 435-442.
- Olveira Fuster, G. y Marín, M. (2007) Actualización en requerimientos nutricionales. *Endocrinología y Nutrición*; 54 (2), 17-29
- Organización mundial de la Salud (2018). *Carencia de micronutrientes*. Recuperado, febrero 18, 2019, de Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza. Sitio web: <https://www.who.int/nutrition/topics/ida/es/>
- Organización mundial de la Salud [En Línea] <http://www.who.int/en/> [Fecha de Consulta 4 de Marzo de 2021]
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. [En Línea] <http://www.fao.org/> [Fecha de Consulta 2 de Febrero de 2021]
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (2021). *Ganadería*. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QA/visualize>
- Organización de las Naciones Unidas Organización Mundial de la Salud, (2012). *Programa conjunto de la FAO/OMS sobre normas alimentarias. Comité del Codex sobre aditivos*. 44ª Reunion [En Línea] http://www.fao.org/tempref/codex/Meetings/CCFA/CCFA44/fa44_02s.pdf [Fecha de Consulta 15 de Enero de 2021]
- Owen, R., Fennema, O. (2000). *Química de los Alimentos*. 2a Edición, Editorial Acribia S.A. Zaragoza. 635 páginas.

- Panea Doblado, B. (2001). *Influencia de la raza-sistema productivo sobre el tejido conjuntivo y la textura de la carne bovina*. Directores de la tesis Carlos Sañudo Astiz, José Antonio Beltrán García. Tesis Universidad de Zaragoza. URI <http://hdl.handle.net/10532/1890>
- Panea B., Catalán A. y Olleta, J.L. (2010) Efecto de la raza y temperatura interna de cocinado sobre algunas características de la textura de la carne bovina. *ITEA*, 106(2), 77-88
- Panel de Micronutrientes del Instituto de Medicina (EE. UU.). (2001). *Ingestas dietéticas de referencia para vitamina A, vitamina K, arsénico, boro, cromo, cobre, yodo, hierro, manganeso, molibdeno, níquel, silicio, vanadio y zinc*. Washington (DC): National Academies Press (Estados Unidos). Disponible en: <https://www.nap.edu/read/10026/chapter/1>
- Pearce, K.L., Rosenvold, K., Andersen, H.J. y Hopkins, D.L. (2011). Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes. A review. *Meat Science*, 89, 111-124.
- Pérez Grana, R.. (2013). Exactitud de las tablas de composición de alimentos en la determinación de nutrientes. *Sanidad Militar*, 69 (2), 102-111. <https://dx.doi.org/10.4321/S1887-85712013000200008>
- Pighín, G, y Rossi, A. (2010). Espinaca fresca, supercongelada y en conserva: contenido de vitamina C pre y post cocción. *Revista Chilena de Nutrición*, 37(2), 201-207. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182010000200009>
- Ponka P. (1999). Cell biology of heme. *The American Journal of the Medical Sciences*, 318(4), 241–256. <https://doi.org/10.1097/00000441-199910000-00004>
- Pourkhalili, A., Mirlohi, M. y Rahimi, E. (2013). Heme Iron Content in Lamb Meat Is Differentially Altered upon Boiling, Grilling, or Frying as Assessed by Four Distinct Analytical Methods. *Scientific World Journal*, 8. <https://doi.org/10.1155/2013/374030>.
- Pretorius, B., Schönfeldt, H. C., y Hall, N. (2016). Total and haem iron content lean meat cuts and the contribution to the diet. *Food Chemistry*, 193, 97–101. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.109>
- PrevenSystem. *Seguridad Alimentaria: Cuidado con la carne poco hecha*.). [En Línea] <https://www.prevensystem.com/internacional/391/noticia-seguridad-alimentaria-cuidado-con-la-carne-poco-hecha.html>). [Fecha de Consulta 6 de Marzo de 2021]
- Purchas R., Simcock, D., Knight T. y Wilkinson B. (2003). Variation in the form of iron in beef and lamb meat and losses of iron during cooking and storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 38, 827-837. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2003.00732.x>

- Purchas, R., Wilkinson, B., Carruthers, F. y Jackson, F. (2014) A comparison of the nutrient content of uncooked and cooked lean from New Zealand beef and lamb. *Journal of Food Composition and Analysis*, 35 (2), 75-82. ISSN 0889-1575, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.04.008>.
- Purslow P. P. (2005). Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Science*, 70(3), 435–447. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.06.028>
- Rakowska, R., Sadowska, A., Waszkiewicz-Robak, B. y Batogowska, J. (2017). Influencia de factores elegidos antes y después del sacrificio en el hierro hemo contenido en músculos de carne seleccionados de toros y novillos cruzados. *CyTA - Journal of Food*. DOI: 10.1080 / 19476337.2017.1312547
- Ramírez Hernández, J., Bonete, M., y Martínez-Espinosa, Rosa M. (2015). Propuesta de una nueva clasificación de los oligoelementos para su aplicación en nutrición, oligoterapia, y otras estrategias terapéuticas. *Nutrición Hospitalaria*, 31(3), 1020-1033. <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.31.3.8325>
- Ramos, A., Cabrera, M. C., Del Puerto, M., y Saadoun, A. (2009). Minerals, haem and non-haem iron contents of rhea meat. *Meat Science*, 81(1), 116–119. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.07.005>
- Ramos, A., Cabrera, M.C. y Saadoun, A.(2012). Bioaccessibility of Se, Cu, Zn, Mn and Fe, and heme iron content in unaged and aged meat of Hereford and Braford steers fed pasture. *Meat Science*, 91(2), 116-124. ISSN 0309-1740. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.001>.
- Ramos Ramirez, M.E., (2019). *Desarrollo de cabanossi con carne de llama (lama glama) procedente de diferentes regímenes de alimentación*. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/4211/ramos-ramirez-miriam-elizabeth.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rand, W.M., Pennington, J.A.T., Murphy, S.P. y Klensin, J.C. (1991). *Compiling data for food composition databases*. Tokyo, United Nations University Press (disponible en inglés en <http://www.unu.edu/unupress/unupbooks/80772e/80772E00.htm>).
- Razminowick, R.H.; Kreuzer, M. y Scheeder, M.R.L. (2006). Quality of retail beef from two grass-based production systems in comparison with conventional beef. *Meat Science*, 73, 351-361.
- Reglamento Bromatológico Nacional. Decreto Nº 315/1994, de 5 de julio de 1994.
- Realini, C., Duckett, S., Brito, G., Dalla Rizza, M. y De Mattos, D. (2004). Effect of pasture vs. Concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Science*. 66, 567-577.

- Rehfeldt, C., Fiedler, I. y Stickland, C. (2004). *Number and size of muscle fibers in relation to meat production*. En: Te Pas, M.F.W, Everts, M.E. y Haagsman, H.P. (Eds.), *Muscle Development of Livestock Animals: Physiology, Genetics and Meat Quality*, Cambridge, 1-38.
- Reinivuo, H y Laitinen, K. (2007) *Propuesta de armonización de los procedimientos de cálculo de recetas. Red Europea de Recursos de Información Alimentaria*http://www.fao.org/uploads/media/reinivuo_laitinen_2007_Eurofir_recipe_harmonisation_D2.2.12_M2.2.4_02.pdf
- Repullo Picasso, R. (2007). *Dietética*. Marban Libros S.L. Madrid.
- Rhee, MS, Wheeler, TL, Shackelford, SD, Koohmaraie, M., 2004. Variación en palatabilidad y rasgos bioquímicos dentro y entre once músculos de la carne. *Journal of Animal Science*. 82, 534 - 550
- Rihel, J. (2018). Cobre en el cerebro. *Nature Chemical Biology*, 14, 638–639.<https://doi.org/10.1038/s41589-018-0089-1>
- Rodriguez, D. (2001). *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. OMNI Research ILSI Human Nutrition Institute. ISBN 1-57881-072-8
- Romero, N. (1997) *Métodos de análisis para la determinación de nitrógeno y constituyentes nitrogenados en alimentos*. En: Morón, C., Zacarías, I., y de Pablo, S., eds. En: *Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición*. Capítulo 15, pags. 165-230. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Dirección de Alimentación y Nutrición Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe
- Roncalés, P., Djamel, D., Sanchez-Escalante, A. y Beltrán, J. (2001). Extension of the Retail Display Life of Fresh Beef Packaged in Modified Atmosphere by Varying Lighting Conditions. *Journal of Food Science*, 66, 181-186. 10.1111/j.1365-2621.2001.tb15603.x.
- Rubio, C., González Weller, D., Martín-Izquierdo, R. E., Revert, C., Rodríguez, I., y Hardisson, A. (2007). El zinc: oligoelemento esencial. *Nutrición Hospitalaria*, 22(1), 101-107. Recuperado en 10 de enero de 2021, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000100012&lng=es&tlng=es.
- Russell R.M., y Suter P.M. (2019). *Deficiencia y exceso de vitaminas y oligoelementos*. Kasper D., Fauci A., Hauser S., Longo D., Jameson J. y Loscalzo J. (Eds.), Harrison. Principios de Medicina Interna, 19e. McGraw-Hill.<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1717§ionid=114913958>
- Saadoun, A y Cabrera, M. (2012). *Calidad nutricional de la carne bovina producida en Uruguay* *Nutritional quality of the beef produced in Uruguay*.

- Saadoun, A., Cabrera, M., Terevino, A., Del Puerto, M., y Zaccari, F. (2019). Nutritional value of bovine meat produce don pasture. En: *Encyclopedia of food Security and Sustainability*, (2), pp. 189-196.
- Salas-Salvadó, J. (2008). *Nutrición y Dietética Clínica*. 2ª ed. Elsevier Masson, Barcelona.
- Salinas, R.D. (2000). *Alimentos y nutrición: introducción a la Bromatología*.
- Saunders, A. V., Craig, W. J., Baines, S. K., y Posen, J. S. (2013). Iron and vegetarian diets. *The Medical Journal of Australia*, 199(S4), S11–S16. <https://doi.org/10.5694/mja11.11494>
- Scheiber I.F., Mercer J.F. y Dringen R. (2014) Metabolism and functions of copper in brain. *Progress in Neurobiology*, 116, 33-57. doi: 10.1016/j.pneurobio.2014.01.002. Epub 2014 Jan 17. PMID: 24440710.
- Seideman, S.C., Cross, H.R., Crouse, J.D.. (1989). Características de la canal, propiedades sensoriales y contenido mineral de la carne de toros y novillos. *Journal of Food Quality* 11, 497 - 507. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1989.tb00912.x>
- Sevenhuysen, G.P. (1994). Food composition databases: current problems and solutions. *Food Nutrition and Agriculture*. 12, 21-26
- Skoog, D.A., Holler, F.J. y Crouch, S.R. (2008) *Principios de Análisis Instrumental*, Sexta Edición, Cengage Learning Editores, México D.F.
- Sistema Nacional de Información Ganadera. [En Línea] <https://www.snig.gub.uy/principal/snig-sistema-nacional-de-informacion-ganadera-pagina-principal?es> [Fecha de Consulta 26 de Febrero de 2021]
- Smith B. y Thompson J. (2018). *Nutrition and growth*. In: The Johns Hopkins Hospital; Hughes HK, Kahl LK, eds. The Harriet Lane Handbook. 21st ed. Philadelphia, PA: Elsevier:chap 21.
- Sociedad de criadores Aberdeen Angus del Uruguay. *LA RAZA. Breve historia de Aberdeen Angus*. [En línea] [Consultado: 22 de febrero de 2021] Disponible en <https://angusuruguay.com/la-raza/>.
- Spurgeon, D. J., Jones, O. A., Dorne, J. L., Svendsen, C., Swain, S., y Stürzenbaum, S. R. (2010). Systems toxicology approaches for understanding the joint effects of environmental chemical mixtures. *The Science of the Total Environment*, 408(18), 3725–3734. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.02.038>
- Stadnik, J. y Keska, P. (2015). Carne y productos cárnicos fermentados como fuente de péptidos bioactivos. *Tecnología Alimentaria* 14 (3): 181-190 DOI:10.17306 / J.AFS.2015.3.19
- Stefanidou, M., Maravelias, C., Dona A. y Spiliopoulou C. (2006). Zinc: a multipurpose trace element. *Archives of Toxicology*, 80(1), 1-9. doi: 10.1007/s00204-005-0009-5. Epub 2005 Sep 27. PMID: 16187101.

- Stewart, M.R., Zipser, M.W. y Watts, B.M. (1965). El uso de espectrofotometría de reflectancia para el ensayo de pigmentos de carne cruda. *Journal of Food Science*, 30(3), 464–469. doi: 10.1111 / j.1365-2621.1965.tb01787.x
- Suman, S.P. y Joseph, P. (2014). *Color and pigment*. En: Dikeman, M. y Devine, G. (Eds.), *Encyclopedia of meat sciences*, Academic Press, Londres, 244-251.
- Swatland, H. J. (2003). Ellipsometry across isolated muscle fibres indicates a refractive contribution to paleness in pork. *Meat Science*, 63, 463-467.
- Taboada Lugo, N. (2017). El zinc y el cobre: micronutrientes esenciales para la salud humana. *Acta Médica del Centro*, 11(2), 79-89. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/medicadelcentro/mec-2017/mec172n.pdf>
- Terevinto Herrera, M. (2010.). *Oxidación lipídica y proteica, capacidad antioxidativa y actividad de las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa en la carne fresca y madurada de novillos Hereford y Braford*. Tesis de maestría. Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Agronomía
- Teucher, B., Olivares, M. y Cori, H. (2004). Enhancers of iron absorption: ascorbic acid and other organic acids. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 74(6), 403-19. doi: 10.1024/0300-9831.74.6.403. PMID: 15743017.
- Tornberg E. (2005). Effects of heat on meat proteins: Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70, 4493-508. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.11.021>
- Torre, M., Viera, I., Facchin, G., Kremer, E., Baran, E., Porochn, T., Di Donato, V., Irigoyen, C., Irigoyen, J., Saldanha, S., Bussi, J., Ohanian, M., Fuentes, J. (2005). Incidence of hypocupraemia in cattle in northern Uruguay and its alleviation with an injected Cu-Phenylalanine complex. *Livestock Production Science*, 95, 49-56.
- Torres Acosta, R., y Bahr Valcarcel, P. (2004). El zinc: la chispa de la vida. *Revista Cubana de Pediatría*, 76(4) Recuperado en 11 de enero de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312004000400008&lng=es&tlng=es.
- Totosaus, A. y Ariza, T. (2016). Carne y productos cárnicos como fuente de péptidos bio-activos. *Nacameh*, 10 (2), 49-58 ISSN-e 2007-0373
- Truswell, A.S., Bateson, D.J., Madifiglio, K.C., Pennington, J.A.T., Rand, W.R. y Klensin, J.C. (1991). INFOODS guidelines: a systematic approach to describing foods to facilitate international exchange of food composition data. *Journal of Food Composition and Analysis*, 4, 18–38.

- Turhan, S., Sule Ustun, N. y Bogachan Altunkaynak, T. (2004). Effect of cooking methods on total and heme iron contents of anchovy (*Engraulis encrasicolus*), *Food Chemistry*, 88(2), 169-172. ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.026>.
- Txbeef. (2007). *Cómo cocinar la carne de res hoy*. [En Línea] https://web.archive.org/web/20071009024733/http://www.txbeef.org/cooking_it_right.php3 [Fecha de Consulta 27 de Febrero de 2021]
- Unwin, I.D. (2000). EUROFOODS Guidelines for recipe information management. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13(2000), 145-754. doi: 10.1006/jfca.2000.0911
- Urdampilleta Otegui, A., Martínez Sanz, J. M. y González-Muniesa, P. (2010). Intervención dietético-nutricional en la prevención de la deficiencia de hierro. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*, 30, 27-41.
- Uruguay beef & Lamb. Traceability in Uruguay. [En Línea] <https://uruguayanmeats.uy/news/traceability/> [Fecha de Consulta 3 de Marzo de 2021]
- U.S. Food & Drugs Administration. [En Línea] <http://vm.cfsan.fda.gov/> [Fecha de Consulta 8 de Febrero de 2021]
- Uzcátegui-Bracho, S., Rodas-González, A., Hennig, K., Arenas de Moreno, L., Leal, M., Vergara-López, J., y Jerez-Timaure, N. (2008). Composición proximal, mineral y contenido de colesterol del músculo longissimus dorsi de novillos criollo limonero suplementados a pastoreo. *Revista Científica*, 18(5), 589-594. Recuperado en 21 de enero de 2021, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S07982592008000500010&lng=es&tlng=es
- Vaclavik, V.A. (2002). *Fundamentos de Ciencia de los Alimentos*.
- Varela, A. B., Oliete, T., Moreno, C., Portela, L., Monserrat, J. A., Carballo, L. y Sánchez, L. (2004). Effect of pasture on the meat characteristics and intramuscular fatty acid profile of steer of Rubia Gallega breed. *Meat Science*, 67, 515-522.
- Vásquez-Caicedo, A.L., Bell, S. y Hartmann, B. (2008). *Report on collection of rules on use of recipe calculation procedures including the use of yield and retention factors for imputing nutrient values for composite foods*. European food information resource network
- Vilaplana, M. (2001). El metabolismo del hierro y la anemia ferropénica. *Elsevier*. 20(4), 123-127.
- Vilar, R. (2002). Cobre. *Revista Educación Química*, 13(2), 142-144.
- Villanueva, G., 2011. *Nutrición del ganado: Zinc*. *Sitio argentino de Producción Animal*. México [En línea] [Consultado: 22 de mayo de 2020]. Disponible: http://www.produccion-animal.com.ar/suplementacion_mineral/146-cinc.pdf
- Voet, D. y Voet, J. G. (2006). *Hemoglobina: función proteica en el microcosmo*. En: Voet, D.; Voet, J. G., *Bioquímica*, 3a. Edición, Argentina, Editorial Médica Panamericana, p. 333 – 370.

- Walpole, R., Myers, R., Myers, S., y Ye, K. (2012) *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias* (9na Ed). Pearson Education ISBN: 978-607-32-1417-9
- Wax, E. y Conaway, B. (2019). Cobre en la Dieta. Mediline Plus (Biblioteca Nacional de Medicina de los EEUU). <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002419.htm> (ingresado el 14 de enero de 2021)
- West, A.R. y Oates, P.S. (2008). Mecanismos de absorción del hierro hemo: cuestiones y controversias actuales. *Revista Mundial de Gastroenterología*, 14(26), 4101–4110. <https://doi.org/10.3748/wjg.14.4101>
- Williamson, C., Foster, R., Stanner, S. y Buttriss, J. (2005). *Red meat in the diet. Food and Nutrition Bulletin*, 30, 323-355. WHO.2003. Report of a joint WHO/FAO expert consultation. WHO Technical Report Series 916, Geneva (Switzerland).
- Yang, A., Brewster, M.J., Lanari, M.C. y Tume, R.K. (2002). Effect of vitamin E supplementation on α -tocopherol and β -carotene concentrations in tissues from pasture-and grain-fed cattle. *Meat Science*, 60, 35-40
- Zacarías, I. y Vera, G. (2005) *Selección de Alimentos, Uso del Etiquetado Nutricional para una Alimentación Saludable Manual de consulta para profesionales de la salud* http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/red-cean/docs/Chile_Etiquetado%20nutricional_Alimentacion%20saludable_2005_%20REDICEAN.pdf.pdf
- Zalamea Molina, L. y Zalamea Cedeño, J. (2020). *Cobre en salud humana*. https://www.researchgate.net/publication/342135324_COBRE_EN_SALUD_HUMANA
- Zhang, S.X., Farouk, M.M., Young, O.A., Wieliczko, K.J. y Podmore, C. (2005). Functional stability of frozen normal and high pH beef. *Meat Science*, 69, 765-772.
- Zurbriggen, C., y Sierra, M. (2017). Innovación colaborativa: el caso del Sistema Nacional de Información Ganadera. *Agrociencia Uruguay*, 21(1), 140-152. Recuperado en 16 de enero de 2021, [dehttp://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2301-15482017000100140&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2301-15482017000100140&lng=es&tlng=es).

GLOSARIO

ÁREA DE OJO DE BIFE (AOB): Parámetro objetivo en la evaluación de las canales, que corresponde al área de la sección transversal del músculo *longissimus dorsi* y que se mide siguiendo el contorno de este músculo a la altura del 10º espacio intercostal (en Estados Unidos la medida se toma a nivel del 12º espacio intercostal). El área del ojo de bife, utilizada en conjunto con otros parámetros, es un elemento de importancia en la evaluación de las características carniceras de una canal. (Correlaciona positivamente con el rendimiento de los cortes finales)

CARNE: Porción comestible de los animales declarados aptos para la alimentación humana por la Inspección Veterinaria, y que comprende el tejido muscular y tejidos blandos que rodean al esqueleto una vez realizada la operación de faena.

CALOR SECO: Procedimiento de cocción que no incluye uso de medio líquido sino aire caliente.

CALOR HÚMEDO: Procedimiento de cocción que implique el uso de líquido.

CANAL: Es el cuerpo del animal sacrificado, sangrado, desollado, eviscerado, sin cabeza ni extremidades. La canal es el producto primario; es un paso intermedio en la producción de carne, que es el producto terminado. Su contenido es variable y su calidad depende fundamentalmente de sus proporciones relativas en términos de hueso, músculo y grasa. (Máximo de carne, mínimo de hueso y óptimo de grasa)

CORTES DEL CUARTO DELANTERO: Los cortes de exportación que surgen de desosar el cuarto delantero, aunque son muchas las variantes, son básicamente: cogote, aguja, bife ancho, carnaza de paleta, marucha, chingolo, tapa de aguja, brazuelo, pecho y asado.

CORTE PISTOLA: Corte con hueso que corresponde al cuarto trasero sin asado (correspondiente a las tres últimas costillas) y sin vacío. Representa más del 40 % de la media canal y más del 80 % del cuarto trasero. Un rendimiento elevado del corte pistola indica una buena conformación de las regiones: dorso lumbar, de la grupa y del muslo, las zonas donde asientan los cortes de más valor. Los cortes que surgen de la pistola son: lomo, bife angosto, cuadril (rump and loin), nalga de adentro, nalga de afuera (corte compuesto, constituido por carnaza cuadrada y peceto), bola de lomo, colita de cuadril, tortugueta y garrón.

CUARTOS DELANTEROS Y TRASEROS: Son los cortes con hueso que resultan de seccionar las medias canales mediante un corte perpendicular al eje de la columna vertebral. Lo habitual es que el corte de separación se haga a nivel del décimo espacio intercostal, quedando 10 costillas en el delantero y 3 en el trasero.

CUOTA HILTON: Contingente arancelario de la Unión Europea (U.E.), originado en la Ronda Tokio del GATT en el año 1980. Comprende "cortes de alta calidad" y comenzó siendo de 1.000 toneladas peso producto otorgadas a Uruguay, de un total de 21.000. Después de una serie de

incrementos, actualmente corresponde a 6.300 toneladas, de un total de 58.100. La tasa arancelaria de la cuota Hilton es 20 %. Las exportaciones de carne bovina con destino a la U. E. fuera de este contingente, tienen una tasa arancelaria de 12,8 % más 1.764 a 3.041 euros / ton. de derechos específicos, dependiendo del producto de que se trate.

CRUDO: alimento en su estado natural sin procesar, ni refinar ni cocer.

ESPESOR DE GRASA SUBCUTÁNEA: Medida realizada sobre la sección transversal a nivel del 10º espacio intercostal, en forma perpendicular al borde externo de la grasa y en general a nivel de la cuarta parte del extremo distal del músculo longissimus dorsi respecto a la columna vertebral (más alejado de la apófisis espinosa de la vértebra correspondiente). La grasa brinda atributos deseables y una ajustada y bien distribuida grasa de cobertura, asociada a un color blanco-cremoso, se considera ideal; sin embargo cantidades excesivas de grasa se deben retirar mediante recortado, lo que disminuye sensiblemente el rendimiento cárnico.

FACTOR DE RETENCIÓN DE NUTRIENTES (RF): Porcentaje de conservación de nutrientes, especialmente vitaminas y minerales, en un alimento o plato después de por ejemplo almacenamiento, preparación, elaboración, proceso de cocción.

FEEDLOT O ENGORDE A CORRAL: Sistema de intensificación de producción de carne basado en el uso de concentrados para aumentar la eficiencia de producción.

GRASA SEPARABLE: Cualquier grasa de corte exterior y grasa entre las costuras musculares que pueda fácilmente separarse del tejido muscular.

HORNEADO: Método de preparación de alimentos mediante el cual son cocinados en un horno, rodeándolos con calor seco.

INVERNADA: es el nombre genérico que se le da a la actividad ganadera de base pastoril cuya finalidad es lograr el desarrollo adecuado de distintas categorías bovinas llevándolas a condiciones óptimas de faena.

MAGRA SEPARABLE: Tejido muscular que queda tras eliminar la grasa separable. Esta incluye estrías de grasa dentro del músculo (veteado).

MARMOREO (MARBLING): Indicador de la cantidad de grasa intramuscular que se evalúa a nivel del “ojo de bife”. En general se utiliza una escala de 6 grados. El marmoreo, actúa como un indicador doble, tanto cualitativo como cuantitativo. Se relaciona con la cantidad de grasa intramuscular y con la jugosidad de la carne. Su abundancia es un indicador de calidad de la carne para determinados mercados. No obstante, impone sus propios límites porque un aumento en el marmoreo implica una baja proporcional en el porcentaje de carne magra en la res.

MEDIA CANAL: Es cada una de las dos partes resultantes de dividir la canal, mediante un corte longitudinal que pasa por la línea media de la columna vertebral.

pH DE LA CARNE: Grado de acidez de la carne, que si es mayor de 5,9 tiene efectos perjudiciales sobre su calidad y duración. Un manejo incorrecto del ganado previo a la faena no permite una evolución post-mortem normal, por lo que los procesos bioquímicos y biofísicos que se desencadenan después de la muerte del animal para que el músculo se transforme en carne, no se pueden desarrollar con el suficiente glucógeno (fuente de energía) para transformarlo en ácido láctico (responsable de la acidez), por lo que no se logra el pH normal de la carne, que es del orden de 5,6 a 5,8. Al verse alterado el proceso de evolución post-mortem, se crean las condiciones para la aparición del fenómeno “corte oscuro”; el color de la carne aparece alterado (oscuro), así como también su textura. Estos cambios no le hacen perder a la carne su aptitud para el consumo humano pero acortan su durabilidad, ya que el pH elevado de la carne vacuna favorece el crecimiento bacteriano al no inhibir ni la supervivencia ni la reproducción bacteriana, lo que hace que el producto tenga una vida útil más corta que lo normal. Desde el punto de vista sanitario el proceso de maduración de la carne con el correspondiente descenso del pH es muy importante porque por debajo del valor 5,8 denominado “zona de protección ácida” se logra la inactivación del virus de la Fiebre Aftosa. Por lo tanto los mercados más exigentes a los que Uruguay exporta (USA, U.E., Chile) exigen este proceso de maduración como garantía sanitaria.

PORCIÓN COMESTIBLE: La parte del producto alimenticio que se puede comer después de recortar y eliminar componentes no comestibles como hueso y tejido conectivo.

RUEDA: Es la porción del corte pistola una vez extraídos el cuadril, la colita de cuadril y la porción de espinazo correspondiente (bife angosto y lomo). Está integrado por los siguientes cortes: nalga de adentro, carnaza cuadrada, peceto, bola de lomo, tortugueta y garrón.

TERMINACIÓN: Evalúa la cantidad y distribución de la grasa subcutánea o de cobertura.

TRAZABILIDAD: Según el *Codex Alimentarius* es la habilidad para seguir el movimiento de un alimento a través de los pasos específicos de producción, procesado y distribución Sistema para identificar el origen de un animal o sus productos, tan lejos en la cadena de producción como sea necesario, de acuerdo al fin con que la trazabilidad haya sido desarrollada (por ejemplo, con fines de seguridad (inocuidad) alimentaria, de determinación de conformidad en programas de certificación o de determinadas características de calidad). Al determinar un sistema de trazabilidad se deben considerar tres aspectos claves: Elección de un sistema de identificación de los animales Creación de una base de datos, determinando que datos se incorporan a la misma. Determinación de cómo se colectarán los datos a nivel de campo para ser almacenados en esa base de datos.

ANEXO I

La estadística es la ciencia en la cual se analizan datos a partir de la recolección, organización y resumen de los mismos para luego obtener conclusiones a partir de ellos. Los métodos estadísticos se diseñan para contribuir al proceso de realizar juicios críticos frente a la incertidumbre y a la variación de las muestras representativas pertenecientes a poblaciones.

La estadística inferencial consiste en un conjunto de técnicas para obtener, con determinado grado de confianza, información de una población a partir de muestras aleatorias de la misma (Walpole et al., 2012; Miller y Miller, 2002). En la misma se incluyen la estimación de parámetros poblacionales (media, varianza) y la formulación y prueba de hipótesis referida a dicha población. Las pruebas de hipótesis se realizan para poder tomar decisiones acerca de una población, para determinar cuándo es razonable concluir, a partir de datos experimentales de las muestras, que la población posea determinadas propiedades y cuando esto no es razonable.

Los resultados se expresan en términos de nivel de significación, que indica la probabilidad de que un determinado resultado pueda haber ocurrido por azar.

El nivel crítico p se determina a partir de la muestra, es el nivel de significación menor que llevaría a rechazar la hipótesis nula. Si el valor p es menor que el nivel de significación, la hipótesis nula se rechaza.

Los test paramétricos son técnicas estadísticas que se aplican suponiendo que las variables en estudio siguen una determinada distribución estadística (generalmente la distribución normal). Brindan más información, son más discriminativos y poderosos que los no paramétricos. Los test de hipótesis más utilizados son para poblaciones normales.

El análisis de varianza es un método estadístico para comparar dos o más medias poblacionales, basándose en las varianzas. Los supuestos del modelo son que los errores son variables aleatorias que siguen una distribución normal e independiente con media cero y varianzas homogéneas. Para analizar la varianza se calcula un estadístico y se compara con un valor crítico, el cual va a depender del nivel de significancia y de los grados de libertad. Si el valor calculado es superior al crítico se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa y si el valor calculado es menor al crítico no se acepta la hipótesis nula. Estos estudios estadísticos se pueden realizar mediante softwares específicos. En el presente estudio se utilizó el programa InfoStat.

Cuando se acepta la hipótesis alternativa, el estudio no finaliza allí. Puede pasar que los valores de todas las poblaciones sean igualmente diferentes o algunas sean iguales y otras no. Debe realizarse

un estudio de contrastes (comparación de medias), que involucra estudiar de dos maneras, mediante la diferencia mínima significativa de Fisher o de Tukey.

La prueba de contrastes consiste en que dos medias serán diferentes estadísticamente si su diferencia supera la diferencia mínima significativa, y en tal caso se identifican con letras diferentes. Cuando no difieren significativamente se identifican con la misma letra.

Rechazar una hipótesis no significa que ésta sea falsa, como tampoco el no rechazarla significa que sea verdadera. El hecho de aceptar una hipótesis, no elimina la duda de que la decisión final sea la correcta (porque está basada en una muestra y no en la población total).

A continuación se presenta a modo de ejemplo los resultados de algunos de los análisis realizados con el programa InfoStat.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cu	24	0,08	0,00	22,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,51	2	0,26	0,88	0,4310
Corte	0,00	0	0,00	sd	sd
Muestra	0,51	2	0,26	0,88	0,4310
Error	6,14	21	0,29		
Total	6,66	23			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,68169

Error: 0,2926 gl: 21

Muestra	Medias	n	E.E.
AMC	2,22	8	0,19 A
APC	2,52	8	0,19 A
AC	2,53	8	0,19 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura A. Estudio estadístico realizado mediante el programa InfoStat del contenido de Cu en base seca para el corte asado según los puntos de cocción.

En el estudio del contenido de Cu (en base seca) para el corte asado presentado en la **Figura A** adjunta puede observarse que no hay diferencia estadísticamente significativa entre los puntos de cocción para un nivel de confianza del 95%. Se promediaron los resultados obtenidos para cada uno de los 5 animales por muestreo (tanto para asado crudo como para poco y muy cocido) en los 8 muestreos analizados.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Zn	8	0,56	0,48	8,23

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1987,34	1	1987,34	7,50	0,0338
Alimentación	1987,34	1	1987,34	7,50	0,0338
Corte	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	1589,32	6	264,89		
Total	3576,66	7			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=28,16005

Error: 264,8867 gl: 6

Alimentación Medias n E.E.

GRANO	182,03	4	8,14	A
PASTO	213,56	4	8,14	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura B. Estudio estadístico realizado mediante el programa InfoStat del contenido de Zn en base seca para el corte de carne vacuno asado crudo .

En la **Figura B** se observa que para el corte de carne vacuno asado crudo existe diferencia estadísticamente significativa (con un nivel de confianza del 95%) en el contenido de Zn entre el ganado terminado a pastura ($n=20$) y el terminado a grano ($n=20$) estudiado evidenciando un mayor nivel en el primero. Se promediaron los resultados obtenidos para cada uno de los 5 animales por muestreo (tanto para los animales terminados a pastura en los 4 muestreos correspondientes como los terminados a grano) en los 8 muestreos analizados.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cu	8	0,84	0,81	8,35

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,63	1	2,63	30,98	0,0014
Alimentación	2,63	1	2,63	30,98	0,0014
Corte	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	0,51	6	0,08		
Total	3,14	7			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,50443

Error: 0,0850 gl: 6

Alimentación	Medias	n	E.E.
GRANO	2,92	4	0,15 A
PASTO	4,07	4	0,15 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura C. Estudio estadístico realizado mediante el programa InfoStat del contenido de Cu en base seca para el corte de carne vacuno cuadril crudo .

Para el corte de carne vacuno cuadril crudo, se observa en la **Figura C** que con un nivel de confianza del 95%, existe diferencia estadísticamente significativa en el contenido de cobre entre el ganado terminado a pastura (n=20) estudiado y el terminado a grano (n=20), mostrando un mayor nivel el primero. Cada uno de los 5 animales de los 8 muestreos fueron terminados mediante un mismo sistema de alimentación, por lo que se trabajó con el promedio de cada uno de ellos para el estudio.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% pérdida de masa	16	0,66	0,63	25,21

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	827,86	1	827,86	27,06	0,0001
Muestra	827,86	1	827,86	27,06	0,0001
Corte	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	428,26	14	30,59		
Total	1256,12	15			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,93122

Error: 30,5900 gl: 14

Muestra Medias n E.E.

BLPC	14,75	8	1,96	A
BLMC	29,13	8	1,96	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura D. Estudio estadístico realizado mediante el programa InfoStat del porcentaje de pérdida de masa (utilizado como medida del grado de cocción) para el corte de carne vacuno bola de lomo.

Se estudió el porcentaje de pérdida de masa para el corte de carne vacuno bola de lomo mediante la utilización del programa InfoStat. En la **Figura D** se observa que existe diferencia estadísticamente significativa entre ambos puntos de cocción con un nivel de confianza del 95%, siendo el punto denominado como muy cocido el de mayor porcentaje de pérdida de masa (mayor grado de cocción) respecto al poco cocido. Se promediaron los resultados obtenidos de los 5 animales para cada uno de los 8 muestreos para los dos puntos de cocción.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cu	14	0,09	0,01	9,20

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,19	1	0,19	1,19	0,2959
Raza	0,19	1	0,19	1,19	0,2959
Muestra	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	1,91	12	0,16		
Total	2,10	13			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,46455

Error: 0,1591 gl: 12

Raza	Medias	n	E.E.
Aberdeen Angus	4,22	7	0,15 A
Hereford	4,45	7	0,15 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura E. Estudio estadístico realizado mediante el programa InfoStat del contenido de Cu en base seca para el corte de carne vacuno bola de lomo crudo para los animales terminados a pastura.

Se estudió mediante el programa InfoStat, el contenido de Cu en base seca del corte de carne vacuna bola de lomo (sin cocción o crudo) en los animales terminados a pastura de las razas Hereford (n=7) y Aberdeen Angus (n=7). En la **Figura E** se observa con un nivel de confianza del 95% que no existe diferencia estadísticamente significativa en el nivel de Cu para el corte bola de lomo de las dos razas estudiadas.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Fe	14	0,52	0,48	14,63

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1497,23	1	1497,23	12,91	0,0037
Raza	1497,23	1	1497,23	12,91	0,0037
Muestra	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	1391,33	12	115,94		
Total	2888,56	13			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=12,54038

Error: 115,9444 gl: 12

Raza	Medias	n	E.E.
Aberdeen Angus	63,25	7	4,07 A
Hereford	83,93	7	4,07 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura F. Estudio estadístico realizado mediante el programa InfoStat del contenido de Fe (en base seca) para el corte de carne vacuna asado (crudo) para los animales terminados a pastura de las razas Hereford y Aberdeen Angus.

Al estudiar mediante el programa InfoStat el contenido de Fe (en base seca) en el corte de carne vacuna asado (crudo) para los animales terminados a pastura de la raza Hereford (n=7) y de la Aberdeen Angus (n=7), se observó que existe diferencia estadísticamente significativa entre ambos con un nivel de confianza del 95%, siendo mayor en la primera (**Figura F**).

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Fe Hemo	14	0,60	0,57	12,51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1430,16	1	1430,16	18,17	0,0011
Raza	1430,16	1	1430,16	18,17	0,0011
Muestra	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	944,45	12	78,70		
Total	2374,61	13			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=10,33202

Error: 78,7043 gl: 12

Raza	Medias	n	E.E.
Aberdeen Angus	60,83	7	3,35 A
Hereford	81,04	7	3,35 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura G. Estudio estadístico realizado mediante el programa InfoStat del contenido de Fe Hemo (en base seca) para el corte de carne vacuna cuadril en el punto de cocción poco cocido para los animales terminados a pastura de las razas Hereford y Aberdeen Angus.

En la **Figura G** puede observarse el estudio del contenido de Fe Hemo (en base seca) para el corte de carne vacuna cuadril en el punto de cocción poco cocido para los animales terminados a pastura de las razas Hereford (n=7) y Aberdeen Angus (n=7) mediante la utilización del programa Infostat. Para la raza Hereford se observa un mayor nivel de Fe Hemo con un nivel de confianza del 95%.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Fe	15	0,67	0,64	8,03

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1975,43	1	1975,43	26,13	0,0002
Raza	1975,43	1	1975,43	26,13	0,0002
Muestra	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	982,75	13	75,60		
Total	2958,18	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=10,28816

Error: 75,5959 gl: 13

Raza	Medias	n	E.E.
Hereford	100,21	10	2,75 A
Aberdeen Angus	124,55	5	3,89 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura H. Estudio estadístico realizado mediante el programa InfoStat del contenido de Fe en base seca para el corte bola de lomo (crudo) para los animales terminados a grano Hereford y Aberdeen Angus.

En el estudio del contenido de Fe (en base seca) del corte bola de lomo (crudo) para los animales terminados a grano de la raza Hereford (n=10) y Aberdeen Angus (n=5) presentado en la **Figura H** adjunta puede observarse que para un nivel de confianza del 95% existe diferencia estadísticamente significativa entre ambas razas, siendo mayor en nivel encontrado en la raza Aberdeen Angus.

ANEXO II

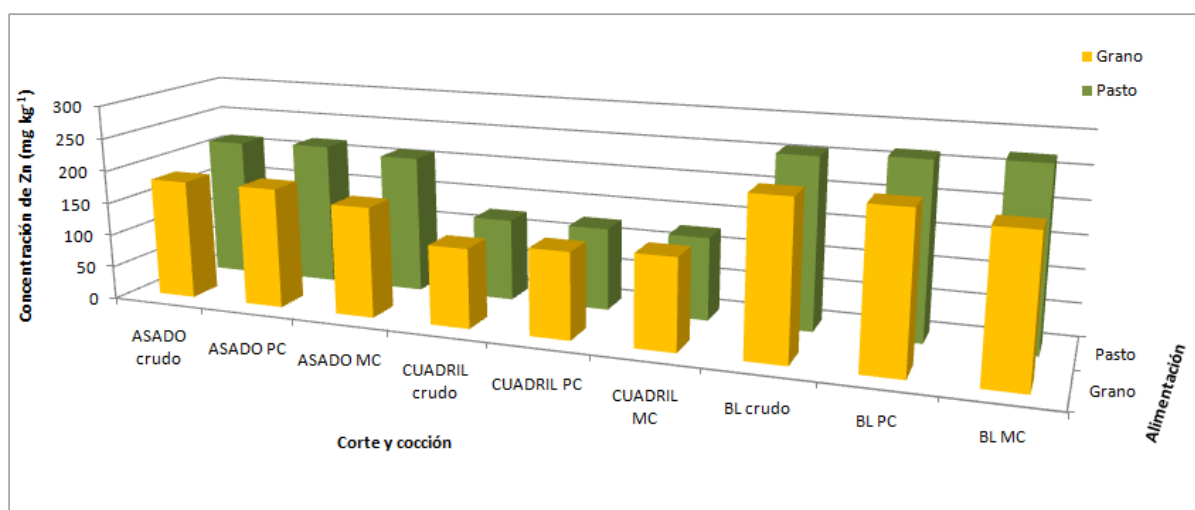
Estudio de los resultados por terminación

A continuación se presenta a modo de ejemplo los resultados de algunos de los análisis realizados con el programa InfoStat donde se intentó evaluar de qué forma el contenido de oligoelementos en carne vacuna está relacionado con la terminación recibida por los animales (pastura o ración). Debido al reducido número de muestras, y la el gran número de variables de influencia (edad de sacrificio de los animales, lugar de origen de los mismos, épocas del año diferentes de faenado, razas diferentes, etc) no fue posible llegar a correlaciones potentes entre los factores pero se consideró interesante adjuntar el estudio como punto de partida para futuras investigaciones.

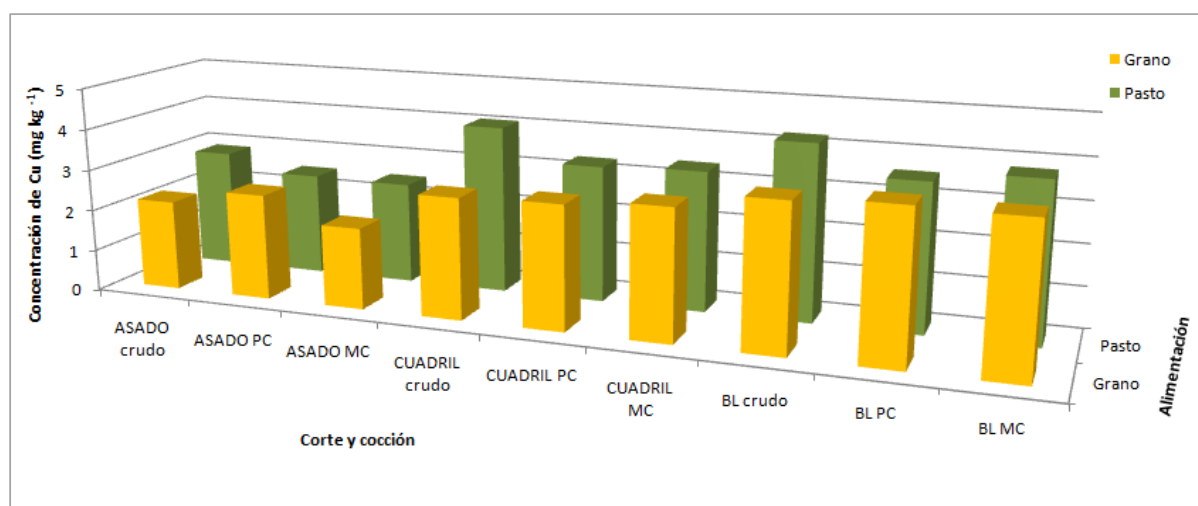
Para comparar los resultados obtenidos de los animales terminados a pasto (n=20) y los de grano (n=20), se realizó el análisis y tratamiento de datos mediante ANOVA, con una confianza del 95% utilizando el software InfoStat®. Se evaluaron las diferencias mediante el test de Tukey.

El ganado vacuno que fue terminado a pasto analizado en el presente estudio, mostró niveles estadísticamente mayores que el de grano en el corte asado en cuanto a los niveles de Zn (tanto crudo como cocidos), en el Cu (para crudo y muy cocido), y para hierro hemo en las muestras muy cocidas. De igual forma, en el corte cuadril superó en el nivel de cobre y hierro en carne cruda al correspondiente ganado terminado a grano.

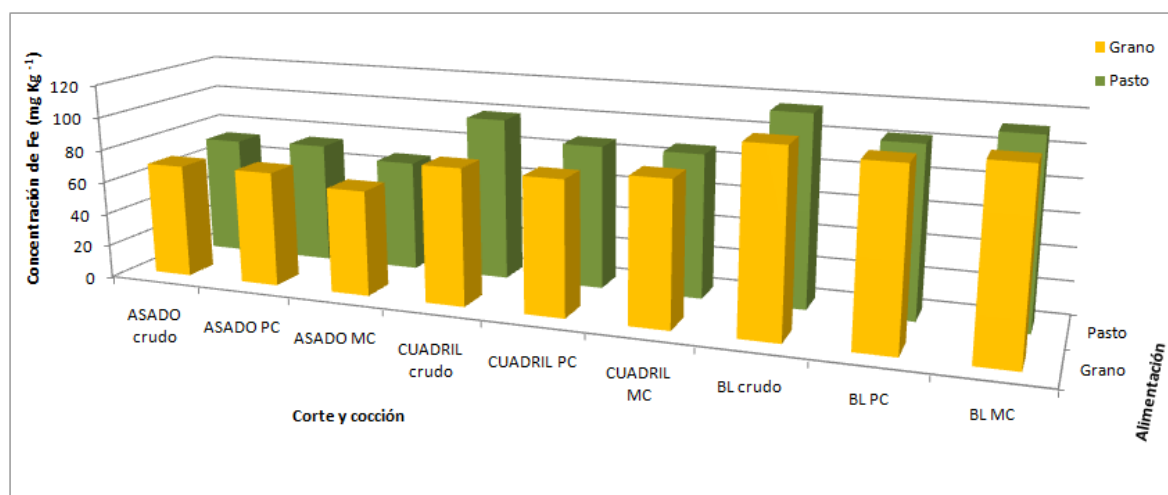
En el corte bola de lomo se encontraron mayores niveles de Zn (tanto para crudo como poco cocido), de Cu (para muestras crudas) y de hierro hemo para carne muy cocida en el ganado que fue alimentado a pasto.



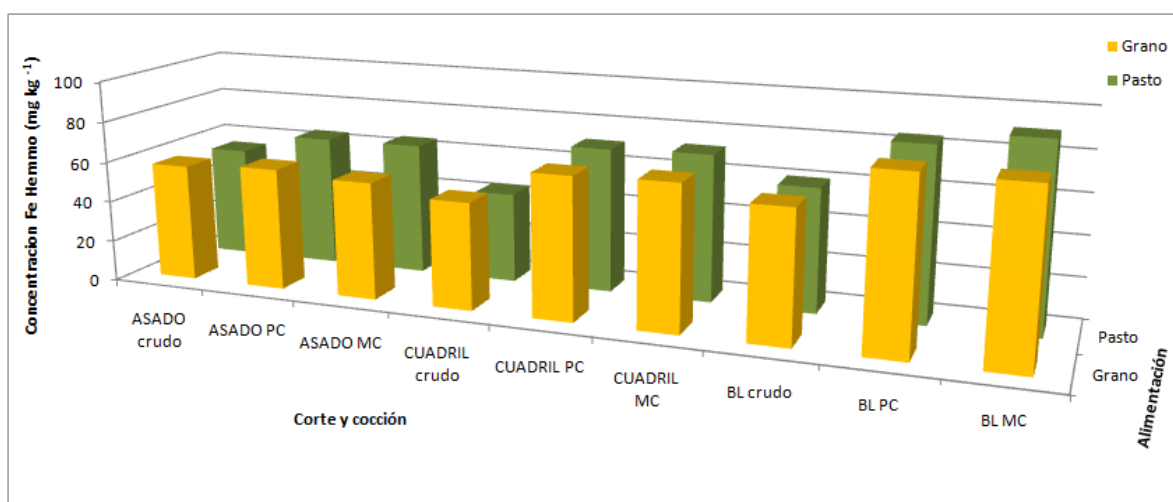
Contenido de Zn (mg kg^{-1} en base seca) en cortes vacunos por grado de cocción según la alimentación recibida por el ganado.



Contenido de Cu (mg kg^{-1} en base seca) en cortes vacunos por grado de cocción según la alimentación recibida por el ganado.



Contenido de Fe (mg kg^{-1} en base seca) en cortes vacunos por grado de cocción según la alimentación recibida por el ganado.



Contenido de Fe Hemo (mg kg^{-1} en base seca) en cortes vacunos por grado de cocción según la alimentación recibida por el ganado.

Estudio de los resultados por raza

Si bien son pocos los animales de cada raza para ser concluyentes sobre el valor nutricional de la carne vacuna, se realizó un estudio, a modo de ejemplo, con los resultados obtenidos sobre la tendencia observada.

Hereford

Se utilizó el software InfoStat® para realizar los tratamientos estadísticos mediante ANOVA (para un nivel de confianza del 95%) y se obtuvieron mayores niveles de Zn en el corte cuadril correspondiente a un grado de cocción moderado (poco cocido) en los animales terminados a pasto de la raza Hereford respecto a los Aberdeen Angus analizados. Para el corte cuadril también se encontraron mayores niveles de Zn en los animales terminados a grano de la raza Hereford tanto en carne cruda como en los distintos niveles de cocción estudiados. Estas mayores cantidades de Zn de los animales terminados a grano de la raza vacuna Hereford también se denotaron en los cortes asado al ser muy cocido y bola de lomo con bajo grado de cocción.

En cuanto a los niveles de cobre, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre la carne de los animales alimentados a pasto en diferentes razas. Mientras que para los animales que

fueron terminados con grano, se obtuvo un mayor nivel en el contenido de cobre en el corte cuadril con un grado moderado de cocción proveniente de la raza Hereford.

Al comparar los niveles de hierro entre las razas Hereford y Aberdeen Angus de animales terminados a pasto y a grano, las muestras provenientes del corte asado crudo y cuadril (tanto para las muestras crudas como las que tuvieron un grado medio de cocción) resultaron más ricas en este elemento las carnes provenientes de animales de raza Hereford que fueron alimentados a pasto. El corte bola de lomo poco cocido en los animales alimentados a grano de la raza Hereford presentó un nivel significativamente mayor de hierro que los correspondientes Aberdeen Angus.

Se estudió y comparó también el contenido de Fe Hemo en las carnes de los animales alimentados a pasto y grano de las distintas razas analizadas. Se observó que tanto para el asado (tanto crudo como muy cocido) como el cuadril poco cocido, la raza Hereford presentó mayores niveles de este nutriente con respecto a la raza Aberdeen Angus.

Cabe destacar que para el presente estudio se analizaron 7 animales de la raza Hereford alimentados a pasto y 10 alimentados a grano.

Aberdeen Angus

Luego de realizar mediante ANOVA el tratamiento estadístico de datos (para un nivel de confianza del 95%) con el software InfoStat®, se obtuvo que para los animales alimentados a pasto de la raza Aberdeen Angus, el nivel de Zn en su carne fue significativamente mayor en el asado poco cocido respecto al mismo corte y cocción de la raza Hereford. Se observó también que el nivel de hierro en los animales terminados a grano de esta raza fue superior en el corte cuadril muy cocido y en la carne cruda del corte bola de lomo.

En cuanto al nivel de Fe hemo en los animales terminados a grano, se obtuvieron mayores resultados para la raza Aberdeen Angus, en el corte cuadril para ambos puntos de cocción.

De la raza Aberdeen Angus se analizaron 7 animales que fueron terminados a pasto y 5 animales a grano.

ANEXO III



Original Research Article

Influence of cooking processes on Cu, Fe, Mn, Ni, and Zn levels in beef cuts

Mariela Pistón^{a,*}, Analía Suárez^a, Valery Bühl^a, Florencia Tissot^a, Javier Silva^a,
Luis Panizzolo^b

^a Grupo de Análisis de Elementos Traza y Desarrollo de Estrategias Simples para Preparación de Muestras (GATPREM), Analytical Chemistry, DEC, Faculty of Chemistry, Universidad de la República, General Flores 2124, 11800, Montevideo, Uruguay

^b Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Faculty of Chemistry, Universidad de la República, General Flores 2124, 11800, Montevideo, Uruguay



ARTICLE INFO

Keywords:

Beef
Microwave-induced plasma optical emission spectrometry
Daily intake
Food composition
Nutritional value
Food analysis
Cooking process

ABSTRACT

Beef is an important source of micronutrients, but little is known about how cooking processes affect the nutritional value. In this study, microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES) was used to determine the contents of Cu, Fe, Mn, Ni, and Zn in three cuts of Uruguayan beef when cooked to two degrees of doneness (medium and well done). The content of minerals varied in the range: Cu (84.9–117.4), Fe (2288–2689), Mn (11.6–20.7), Ni (12.4–19.8), and Zn (4100–7471) µg per 100 g portion for medium and Cu (76.3–97.0), Fe (1886–2689), Mn (9.7–15.4), Ni (12.7–26.8), and Zn (3187–6204) for well-done. No significant losses through leaching were observed up to a weight loss of 16 % (medium). However, when the weight loss was 28–35 % (well done), the micronutrients content decreased. Despite these losses, Uruguayan beef was confirmed to be a particularly good source of Zn and a good source of Cu and Fe. The daily contribution of Mn was not significant (1%) and the Ni content was far below the tolerable upper intake level. In addition, this work revealed MIP OES to be an economical and green method for the determination of trace elements in beef.

1. Introduction

Living organisms need inorganic elements to survive in a healthy condition. We define essential elements as those whose absence or deficiency produces disturbances that are reversed once incorporated. Among the essential trace elements, there are several transition metals such as Cu, Zn, Fe, and Mn. These metals are components of metalloenzymes that are involved in various metabolic processes in both animals and plants, particularly Fe, it is also forming part of the oxygen carrier hemoproteins hemoglobin and myoglobin. Humans obtain the necessary micronutrient requirements through diet (Jiang et al., 2019; Whittaker, 2010). Although the essentiality of Ni in humans is still not well known, hypotheses based on animal tests suggest that Ni could be a beneficial element for human health (Cheng et al., 2016; Zambelli and Ciurli, 2013).

Beef is an important source of protein with high biological value, providing all the essential amino acids for growth, development, and the maintenance of vital functions that promote well-being and health. This food is also an excellent source of micronutrients (vitamins, and

minerals) that are often limited in the diet, such as vitamin A, Fe, Zn, Cu, and other bioactive compounds (Alfaia et al., 2013; Cabrera et al., 2010; Cabrera and Saadoun, 2014; Lombardi-Boccia et al., 2002, 2005). Thermal treatments can either improve the nutritional value of beef, increasing the bioavailability of some of nutrients, or deteriorate the nutritional value through the loss of micronutrient via process such as leaching (Lombardi-Boccia et al., 2005; Lopes et al., 2015; Perelló et al., 2008; Reartes et al., 2016). There are two general heating strategies, namely, cooking with dry heat or moist heat. Thus, heat treatment leads to mineral losses, however, the magnitude of mineral loss depends largely on the cooking process (Alfaia et al., 2013). Cooked beef compared to raw beef shows a higher iron concentration due to moisture losses during heating (Purchas et al., 2004). Few studies have been conducted on mineral retention in cooked meats, but all agree that zinc, copper, and iron are the most stable minerals during cooking (Alfaia et al., 2013).

Uruguay is one of the main exporters of beef and has the second highest rate of domestic consumption globally (59 kg per capita/year). The production system is based on native pastures with mixed grazing of

Abbreviations: INAC, National Meat Institute; MIP OES, microwave-induced plasma optical emission spectrometry; CRM, certified reference material; LOD, limit of detection; LOQ, limit of quantification.

* Corresponding author.

E-mail address: mpiston@fq.edu.uy (M. Pistón).

<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103624>

Received 23 May 2020; Received in revised form 26 July 2020; Accepted 17 August 2020

Available online 21 August 2020

0889-1575/© 2020 Elsevier Inc. All rights reserved.

cattle and sheep, in the open, all year long (Instituto Nacional de Carnes (INAC, 2018; United States Department of Agriculture (USDA, 2019). According to the United States Department of Agriculture (USDA), a study on consumer habits, conducted for the National Meat Institute (INAC), found that 40 % of Uruguayans consumed beef at least four times per week (United States Department of Agriculture (USDA, 2019).

Several studies have reported the contents of essential trace elements such as Fe, Zn, Mn, and Cu in cuts of Uruguayan raw beef (Cabrera et al., 2010; Cabrera and Saadoun, 2014; Ramos et al., 2012) but there is no information about Ni levels. Although animal tissues are considered a poor source of Ni, it is important to evaluate Ni levels when cooking with metal utensils to verify that there is no migration from these materials to the food. Moreover, as hypersensitivity to Ni has been reported and a maximum allowed value of 1000 µg/day has been established for adults (Ihedioha et al., 2014; NIH, 2011a; Ojezele et al., 2016), it is essential to determine the Ni levels in foods.

Considering that beef is consumed cooked, it is important to establish the nutritional quality of this food after the cooking process. Although there is a wealth of information about the nutritional value of raw beef, only a few studies have evaluated the changes in trace element levels after cooking processes. Several authors have studied the effects of cooking using traditional recipes (Birla Singh and Taneja, 2010; D'evoli et al., 2009; Demirezen and Uruç, 2006; Goran et al., 2016; Lombardi-Boccia et al., 2002). However, the results obtained using this approach contain contribution from the other ingredients added to the dishes, which may also contain trace elements.

Bognár and Piekarski (2000) published a guide for evaluating and calculating the mineral (and other nutrients) retention percentages in dishes prepared after some type of cooking, taking as a reference a portion of 100 g and normalizing it to the weight loss during cooking (Lombardi-Boccia et al., 2005). Herein, this guide was applied to assess the Cu, Fe, Mn, Ni, and Zn levels in three different cuts of Uruguayan beef (rib plate, top sirloin, and knuckle) after cooking to two degrees of doneness (medium and well done). These degrees were selected because they are popular among consumers. The cooking process was carried out without any additional ingredients so that only the mineral retention of the beef cut was evaluated.

Trace elements in food can be determined using several methods consisting of microwave-assisted digestion with mineral acids and subsequent measurement using atomic spectrometry techniques. The use of concentrated mineral acids often combined with oxidizing agents are considered drastic methods of sample preparation. Analytical methods under mild conditions are a new trend to follow for better compliance with the principles of green chemistry. One of the main challenges is to overcome matrix interferences, when mild conditions are applied, this often requires the use of standard addition methods or other complex calibration strategies (Diaconescu et al., 2013; Higuera et al., 2019; de Higuera et al., 2020d; Machado et al., 2016a). Recently, microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES), which was popular several decades ago, has reemerged with several improvements. In particular, the MIP OES technique employs the concept of "running on air" with a nitrogen plasma, which results in cost savings and the removal of expensive and flammable gases from the laboratory (Neher et al., 2018; Pinto et al., 2019; Williams et al., 2019; Bernardo et al., 2020). This technique is not the first choice for trace element determination in foodstuff yet because the detection limits are not as low as those achieved with electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS) or inductively coupled plasma – mass spectrometry (ICP MS). However, it was demonstrated in this work that for beef it can be used for the determination of elements in very low levels such as Mn and Ni with good performance.

As a simple and green analytical method, microwave-assisted digestion with dilute acid followed by MIP OES analysis was successfully applied for the determination of Cu, Fe, Mn, Ni, and Zn in beef samples with direct calibration. Therefore, this work provides not only nutritional information about cooked beef but also a simple and

economical analytical method for trace element determinations in beef samples.

2. Materials and methods

2.1. Reagents and instruments

Calibration standards were prepared from a 1000 mg L⁻¹ commercial solution containing all the studied elements (Merck, Darmstadt, Germany). All the materials were decontaminated using a 10 % (v/v) HNO₃ (p.a., Merck, Darmstadt, Germany) solution before use. Purified water (resistivity 18.2 MΩ cm) was obtained from a Millipore water purification system. Before sample digestion, nitric acid (HNO₃, 4.5 mol L⁻¹) was subjected to a sub-boiling distillation process (Milestone, Sorisole, Italy). All other reagents were of analytical reagent grade.

The certified reference material (CRM) bovine muscle ERM-BB184 (provided by the Institute for Reference Materials and Measurements, European Commission, Geel, Belgium) was employed to evaluate the trueness of the analytical determinations of Cu, Fe, Mn, and Zn. For Ni, the CRM Tort-2 Lobster Hepatopancreas (provided by the National Research Council of Canada, NRC-CNRC, Ottawa, Canada) was used because no other CRM with a certified Ni value was available.

For sample treatment, a microwave digester (Mars 6 CEM, North Carolina, USA) equipped with 12 Easy Prep Plus vessels was used. Analytical determinations were performed using a microwave-induced plasma optical emission spectrometer 4210 (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) equipped with an autosampler model SPS 4 (Agilent Technologies, Santa Clara, USA), an inert One Neb nebulizer with a double-pass glass cyclonic spray chamber system, and a standard torch. The spectrometer used an online nitrogen generator model 4107 (Agilent Technologies, Santa Clara, USA), which takes in air from the environment through an air compressor model KK70 TA-200 K (Dürr Technik, Bietigheim-Bissingen, Germany).

2.2. Samples

Beef samples were provided by INAC from a local slaughterhouse. A standard code established by the United Nations was used to refer to each cut of each animal. The correspondence between the beef and the feeding system of the animal was corroborated through the Electronic Information System for the Meat Industry (SEIIC) and the National Livestock Identification System (SNIG), which guarantee the traceability of the entire process. This study employed beef from animals with an average age of 36 months (steers and heifers) and weights in the range of 109–153 kg (average of 139 kg). The carcass was split into two equal sides down the length dividing the spinal column. Forty half carcasses with 36 h of sanitary maturation were sampled (Hereford, n = 27; Aberdeen Angus, n = 12; and Brangus, n = 1). The selected cuts from each carcass were rib plate, top sirloin, and knuckle. In the slaughterhouse, the rib plate samples were prepared from the rib plate limited dorsally by the *M. longissimus dorsi* and ventrally by the costosternal and costochondral cartilages (this cut is very popular in Uruguay and Argentina). The top sirloin samples consisted of a cut from the croup based on the coccyx and the sacral hemivertebrae (upper portion of the *glutei medius*, *accessorius*, and *profundus*). The knuckle samples were obtained from the foreface of the hind leg (*vastus intermedius* muscle). Portions of 500 g (forty of each cut) were labeled, vacuum packed, and transported from the slaughterhouse to the Faculty of Chemistry.

The rib plate samples were deboned and hand-trimmed of adipose tissue in the laboratory using stainless steel knives (440C). Each cut was subsequently divided into three portions, of approximately 100 g, the same day they were received. One of the portions was analyzed raw and the other two portions were cooked and then analyzed. The cooking conditions are summarized in Table 1. In the first stage, the beef was grilled on an aluminum plate with a Teflon nonstick coating (Ufesa, Vitoria, Spain). After searing (with flipping), each portion was placed in

Table 1

Cooking conditions.

Cut	Degree of doneness	Searing time (min)	Oven time (min)	Final temperature (°C)	Total cooking time (min)
Rib	M	4	5	60	9
plate	WD	8	14	98	22
Top	M	8	12	65	20
sirloin	WD	12	28	83	40
Knuckle	M	7	11	61	18
	WD	12	32	82	44

M: medium; WD: well done (USDA, 2006).

a stainless-steel dish in an electric oven (Delne, Montevideo, Uruguay) to finish the cooking process. The temperatures of the griddle used for the searing process and oven were pre heated at 150 ± 5 °C, respectively. To monitor the temperature of each portion, a probe (ThermoWorks, Salt Lake City, USA) was placed in the center of the portion. No other ingredients were added during the cooking process. Here, a medium degree of doneness refers to a portion of beef with internal temperature of approximately 60 °C (remains red) when the cooking process finish, whereas well done portions refers to a internal temperature higher than 72 °C, as it is detailed in Table 1 (United States Department of Agriculture (USDA, 2006)). The forty samples of each cut (rib plate, top sirloin, and knuckle) were weighed before and after cooking (allowing to rest for 3 min) to determine the weight loss. Weight loss is due to evaporation and leaching processes.

The raw and cooked portions of the samples were homogenized and triturated with a food blender (with a stainless-steel blade) and then dried in an oven at 103 °C for 12 h (AOAC 950.46) to obtain dry samples for further analysis. After weighting to determine the dry weight, the dry samples, approximately 50 g, were ground with a stainless- steel blade mill to obtain a fine powder (AOAC International, 2005).

2.3. Analytical procedure

The analytical determinations of Cu, Fe, Mn, Ni, and Zn in beef were not performed using a standard routine method. Instead, an alternative economic procedure was validated using digestion in dilute acid and MIP OES.

Microwave-assisted digestion was used to prepare the beef samples for trace element determination. Each sample (0.5 g, dried and ground) was treated with 10 mL of dilute HNO₃ (4.5 mol L⁻¹) using the following digestion program: heat to 200 °C over 15 min, maintain at 200 °C for 15 min, and cool to room temperature (power 400–1800 W). The use of a unique dilute acid (HNO₃) for the digestion of vegetable samples has previously been reported by our research group (Machado et al., 2016b). Subsequently, 10 mL of ultrapure water was added to decrease the original acidity, so the final volume was 2000 mL.

All the samples were analyzed in duplicate and utensils and reagent blanks were also run.

The multielement analytical determinations were carried out by MIP OES. The plasma gas flow was fixed at 20 L min⁻¹ and the auxiliary gas flow at 1.5 L min⁻¹. The following operational settings were applied: uptake time, 70 s; plasma stabilization time with sample aspiration, 10 s; read time, 3 s (read in triplicate); and wash time, 20 s. Automatic background correction was used. The instrumental parameters used for each element are listed in Table 2.

The analytical method was validated according to the Eurachem Guide recommendations (Magnusson and Örnemark, 2014). Validation was performed using direct calibration, five levels of concentration, in the ranges presented in Table 3.

Linearity was verified in a suitable range for this application using the lack-of-fit test (Miller and Miller, 2010). The precision was evaluated using beef samples and the CRMs. To evaluate the trueness, Student's *t*-test was carried out to compare the recovery percentage after

Table 2

Instrumental parameters for element determination by MIP OES.

Element	Wavelength (nm)	Viewing position	Nebulizer flow (L min ⁻¹)
Cu	324.754	0	1.0
Fe	371.993	0	0.65
Mn	403.076	10	1.0
Ni	352.454	0	0.75
Zn	213.857	0	0.45

analyzing the CRMs (dry-basis) with the theoretical value (100 %). To estimate the limits of detection and quantification (LOD and LOQ), the criteria established by the Eurachem Guide, i.e., 3s and 10s (where s is the standard deviation of the blank), were used.

The retention factor of each element in each sample was determined according the equation proposed by Bognár and Piekarski (2000):

$$\%Retention = \frac{\text{Nutrient content} / 100 \text{ g of cooked beef} \times \text{beef weight (g) after cooking}}{\text{Nutrient content} / 100 \text{ g of raw beef} \times \text{beef weight (g) before cooking}}$$

To compare mineral contents in medium cooked and well-done beef respect raw beef a Student's *t*-test was used (Miller and Miller, 2010).

3. Results and discussion

3.1. Analytical method

The sample preparation procedure for animal tissues using diluted acid resulted very efficient with the advantage of reducing the use of dangerous residues and lowering costs. The solution obtained after microwave-assisted digestion was limpid and no further procedures, except dilution with ultrapure water, were required prior to instrumental analysis. Before being applied to analyze the beef samples, this method was validated. The main figures of merit are shown in Table 3.

LOD and LOQ are showed in Table 3, all of them were suitable for the objectives of this work. For Cu, Fe and Zn the LOQ were at least five times below the expected values in beef of these minerals. Very low levels were expected for Mn and Ni, in both cases the LOQ were low enough to be able to quantify both elements with an adequate confidence level. It should be noted that these limits obtained by MIP OES are even lower than reported LOD and LOQ using traditional atomic spectrometry techniques such as ETAAS and ICP OES for the determination of Mn and Ni in fish, cheese and canned meat (Milačić and Kralj, 2003; Bakircioglu et al., 2011; Kowalska et al., 2020).

For all the calibration functions, the R² value was greater than 0.998.

Considering that the analytical determinations were performed for trace levels, the results for precision were adequate (RSD% < 10). For trueness evaluation, all the experimental *t* values were below the theoretical *t* value (Table 3). Thus, at the 95 % significance level, the recoveries did not differ significantly from 100 %, which ensures trueness. Furthermore, as no significant matrix effect was revealed, the direct calibration method could be applied for routine analyses.

This method can be considered an interesting alternative to standard food analytical methods, which commonly use concentrated acids (frequently mixed with H₂O₂) for sample treatment. Furthermore, the multielement MIP OES technique has several advantages over other widely used atomic spectrometry techniques. For instance, with MIP OES, the use of expensive gases such as high-purity argon and acetylene can be avoided.

3.2. Mineral content in raw and cooked beef

After validating the analytical method, it was applied for the determination of Cu, Fe, Mn, Ni, and Zn in the three cuts of beef (rib plate, top sirloin, and knuckle) before and after cooking. The minerals contents in the raw beef samples are presented in Fig. 1 and 2. To facilitate direct comparisons between the different cuts, the results are expressed on a

Table 3
Figures of merit.

Parameter	Cu	Fe	Mn	Ni	Zn
Linear range (mg L ⁻¹) *	0.009–2.0	0.18–20.0	0.0018–5.0	0.0045–5.0	0.27–2.0
LOD (mg kg ⁻¹) (3 s)	0.17	4.2	0.02	0.056	0.46
LOQ (mg kg ⁻¹) (10s)	0.51	13	0.072	0.18	1.54
Trueness ** (n = 10)	97.9	100.1	104.9	95.0	93.2
t experimental ***	−0.79	0.03	1.67	−2.16	−2.20
Precision (RSD%, n = 6)	3.3	9.0	4.2	5.1	2.0

*Linear range studied for this application (expressed in solution). ** Recovery (%) compared with the certified value for the analyzed CRM. All the results (except the linear range) are expressed as mean values, dry basis. *** Comparison with a recovery of 100 % by Student's *t*-test, *t* (0.05, 10) = 2.26 (Miller and Miller, 2010).

dry basis. Moisture percentage of the raw beef was 74 %, medium 68 % and well done 65 % (mean values with no significant differences between cuts).

These results are the average values obtained for each element in the three cuts. Previously, it was verified, using an ANOVA study, that the 40 values for each element in the same cut were statistically comparable, within individual animals and thus could be averaged as shown in Table 2 (Miller and Miller, 2010). The levels of Cu, Fe, and Mn in the rib plate were lower than those in the top sirloin and the knuckle, which were similar. In contrast, the Ni content was higher in the rib plate than in the other two cuts.

The content of Zn is of particular note, as the levels in the three cuts were significantly different. In particular, the level in the top sirloin was approximately 50 % lower than those in the other cuts. Owing to the role of Zn in metabolic processes, the Zn levels could be correlated to the amount of connective tissue in each cut, with less connective tissue corresponding to lower Zn contents. This was reported by Seideman et al. (1989), who found higher levels of Zn in cuts with a higher proportion of connective tissue such as the rib plate. Rhee et al. (2004) reported that cuts from the *gluteus medius* muscle have a lower collagen content, which also agrees with the results of this work since top sirloin is obtained from that muscle. The Cu, Fe, Mn, and Zn contents found in this work for Uruguayan raw beef agree with the ranges reported by local researchers (Cabrera et al., 2010; Cabrera and Saadoun, 2014), although it should be noted that the reported values are not for the exact same cuts.

Table 4 presents the contents of the studied elements in the three beef cuts cooked to two different degrees of doneness, medium and well done, expressed on a dry basis to facilitate direct statistical comparisons between the cuts. As consumer preferences vary, up to six different degrees of doneness can be defined. However, medium, and well done were selected for this study because they are common degrees of doneness that are popular among consumers in Uruguay.

The weight loss observed for the medium degree of doneness was between 10 % and 16 %, whereas for the well-done samples, the weight loss was between 28 % and 35 %.

The individual retention values obtained for each cut at each degree

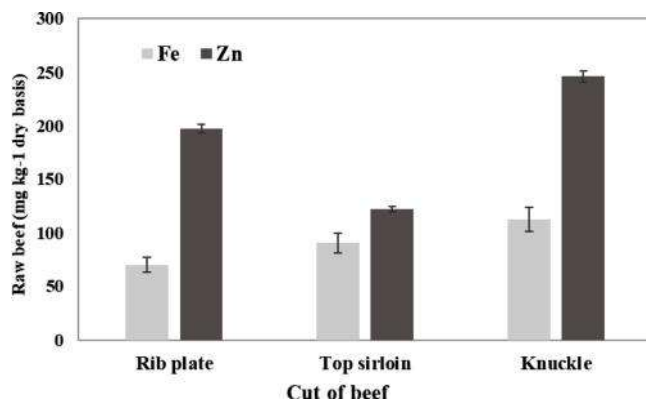


Fig. 1. Concentrations of Fe and Zn in different cuts of raw beef (n = 40).

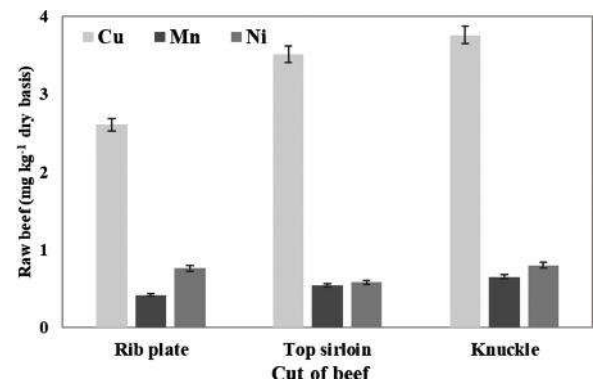


Fig. 2. Concentrations of Cu, Mn, and Ni in different cuts of raw beef (n = 40).

Table 4

Mineral contents in different beef cuts according to the degree of doneness (mg kg⁻¹, dry basis).

Cut	Degree of doneness	Cu	Fe	Mn	Ni	Zn
Rib plate	Raw	2.61 ± 0.08	70.4 ± 6.3	0.421 ± 0.02	0.763 ± 0.04	198 ± 4
		2.54 ± 0.08	68.4 ± 6.1	0.347 ± 0.01	0.372 ± 0.02	194 ± 4
	Medium	2.28 ± 0.07	56.4 ± 5.1	0.290 ± 0.01	0.381 ± 0.02	144 ± 3
		3.51 ± 0.11	90.8 ± 8.2	0.543 ± 0.02	0.583 ± 0.03	123 ± 2
	Well done	3.18 ± 0.10	78.6 ± 7.1	0.489 ± 0.02	0.541 ± 0.03	116 ± 2
		2.74 ± 0.08	66.1 ± 5.9	0.395 ± 0.02	0.592 ± 0.03	95 ± 2
Top sirloin	Raw	3.76 ± 0.11	113 ± 10	0.652 ± 0.003	0.802 ± 0.04	246 ± 5
		3.51 ± 0.11	101 ± 9	0.619 ± 0.03	0.344 ± 0.02	222 ± 4
	Medium	2.90 ± 0.09	80.4 ± 7.2	0.461 ± 0.02	0.381 ± 0.02	186 ± 4
	Well done					
Knuckle	Raw					
	Medium					
	Well done					

Results are expressed as mean ± standard deviation (n = 40 for each cut).

of doneness were averaged (Table 5).

Using Student's *t*-test, it was verified that the mean content of each element in each cut at the medium degree of doneness did not differ

Table 5

Retention (%) of micronutrients after cooking.

	Rib plate		Top sirloin		Knuckle	
	Medium	Well done	Medium	Well done	Medium	Well done
Cu	97 ± 13	88 ± 15	91 ± 14	78 ± 16	94 ± 14	77 ± 14
Fe	97 ± 5	80 ± 12	87 ± 8	73 ± 13	90 ± 8	71 ± 12
Mn	82 ± 12	69 ± 15	90 ± 10	73 ± 16	95 ± 11	71 ± 9
Zn	98 ± 8	73 ± 14	94 ± 9	78 ± 11	91 ± 10	75 ± 12

Medium: weight loss of 10–16 %; Well done: weight loss of 28–35 %.

significantly from the mean content in the corresponding raw cut (all experimental t values < theoretical t values (0.05,40) = 2.45) (Miller & Miller, 2010). Thus, with a weight loss up to 16 %, no significant loss of these micronutrients occurred by leaching. In contrast, using the same statistical tool, for weight losses corresponding to the well-done degree of doneness (28–35 %), the micronutrient contents decreased when compared to raw beef (all experimental t values > theoretical t values (0.05, 40) = 1.99). Despite these statistically significant changes in micronutrient contents, as discussed in section 3.3, the quality of the beef cuts was not affected from the point of view of nutritional value. It can be also observed that the retention percentages of micronutrients between medium and well-done do not differ significantly taking into account the mean values and their associated error (Table 5).

In the case of Fe, it is well known that the fraction with the highest bioavailability is Fe heme (Pretorius et al., 2016). In previous studies, the amount of heme Fe (%) was determined to be in the range of 75–98 % for raw beef and 69–96 % for the cooked cuts (Bühl et al., 2019). This change is in accordance with the evidence that the amount of heme Fe is decreased after cooking processes by conversion into non-heme Fe (Lombardi-Boccia et al., 2002).

The retention factors obtained in this work differ from those reported by Lombardi-Boccia et al. (2005), where increases in the contents of several elements were observed. However, with the cooking processes used in the current study, which are commonly used by the local population, and with no extra ingredients added, there is a tendency to decrease the elements content when the weight loss was greater than 16 %.

3.3. Nutritional profile and daily intake

To evaluate the nutritional value of this food, it is important that studies are conducted on samples that represent how is typically consumed. Beef is a recognized source of micronutrients but studies of the composition of raw meat do not accurately represent the nutritional value of this food. In this work, we evaluated the quality of the three selected cuts of beef and established their daily contributions to the diet. Accordingly, the contents of the studied micronutrients per 100 g portion are shown in Table 6 and their contributions to the daily intake are presented in Table 7. Two life-stage groups were selected as examples, female, and male adults. With the provided information, it is possible to calculate the contributions for other life-stage groups in the same way. It is worth mentioning that an adult may consume more than 100 g of beef in one day, especially in South American countries.

Regarding Ni, the obtained values were compared to the maximum admissible value (NIH, 2011a). As the observed levels were far lower than the tolerable upper intake level of 1000 µg/day, the beef samples do not pose any health risks, even if more than one portion of 100 g is consumed per day. This result should be valid whenever glass dishes and stainless steel and Teflon utensils are used, as in this work.

The data in Table 7 confirm that Uruguayan beef is a particularly good source of Zn (even the top sirloin cut) and a good source of Cu and Fe. However, it is a poor source of Mn, as the maximum contribution is approximately 1% of the dietary reference intake (DRI) of an adult (NIH, 2011a; FDA, 2016).

4. Conclusions

In this study, relevant information on the influence of cooking processes on the nutritional value of popular beef cuts was determined. It was found that the loss of minerals by leaching was not significant up to a weight loss 16 % (medium degree of doneness). However, with a greater weight loss (well-done degree of doneness), the mineral content decreases slightly. This decrease does not affect the quality of the beef as a good source of Cu and Fe and a particularly good source of Zn in the diet. This kind of study provides information that can be used to assess the nutritional value of food as it is typically consumed. Additionally,

Table 6

Mineral contents of the different beef cuts (µg per 100 g portion, fresh weight).

Cut	Degree of doneness	Cu	Fe	Mn	Ni	Zn
Rib plate	M	85 ± 3	2290 ± 210	11.6 ± 0.5	12.4 ± 0.6	6500 ± 130
		76 ± 2	1890 ± 170	9.7 ± 0.4	12.7 ± 0.6	4810 ± 96
	WD	106 ± 3	2630 ± 240	16.3 ± 0.6	20 ± 1	4100 ± 80
		92 ± 3	2210 ± 200	13.2 ± 0.5	18 ± 1	3190 ± 64
Top sirloin	M	117 ± 3	3390 ± 300	20.7 ± 0.8	20 ± 1	7440 ± 150
		97 ± 3	2690 ± 240	15.4 ± 0.6	27 ± 1	6200 ± 120
	WD					

M: medium; WD: well done. Results are expressed as mean ± standard deviation (n = 40 for each cut).

Table 7

Contribution to the diet of different beef cuts according to the degree of doneness.

Life-stage group	Cut		Cu	Fe	Mn	Zn
Female (31–50)	Rib plate	DRI (µg/d)	900	18,000	1800	8000
		M	9	13	0.6	81
	WD		8	10	0.5	60
		M	12	15	1.0	51
	Top sirloin		10	12	0.9	40
		M	13	19	0.7	93
	Knuckle		11	15	1.2	78
		WD				
	Rib plate	DRI (µg/d)	900	8000	2300	11,000
		M	9	29	0.5	59
Male (31–50)	Rib plate		8	24	0.4	44
		WD				
	Top sirloin	M	12	33	0.8	37
		WD	10	28	0.7	29
	Knuckle	M	13	42	0.6	68
		WD	11	34	0.9	56

DRI: Dietary reference intake (NIH, 2011b; FDA, 2016); M: medium; WD: well done. Considering a portion of 100 g, fresh weight.

the validated analytical method based on MIP OES, which was used in this study for the determination of Cu, Fe, Mn, Ni, and Zn, can be considered a reliable, economical, and green alternative for the analysis of minerals in food.

CRedit authorship contribution statement

Mariela Pistón: Project administration, Conceptualization, Funding acquisition, Supervision, Validation, Writing - review & editing. **Analía Suárez:** Validation, Investigation. **Valery Bühl:** Validation, Investigation. **Florencia Tissot:** Validation, Investigation. **Javier Silva:** Validation, Investigation. **Luis Panizzolo:** Validation, Investigation, Conceptualization, Supervision.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Acknowledgements

The work was supported by the Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC-VSP-1608), the Basic Sciences Program (PEDECIBA), and the Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII). The authors thank Frigorífico Pando - ONTILCOR SA for providing beef samples. To the National Meat Institute (INAC), Ing. Alim. Carlos

Mendez, Dr. Juan Burghi, Ing. Xavier Paz, Isabel Dol, Chef Marcelo Cerminara for his help in the cooking processes, Valentina Meléndrez, and Fabián Bermúdez.

References

- Alfaia, C.M., Lopes, A.F., Prates, J.A.M., 2013. Cooking and diet quality: a focus on meat. In: Preedy, V.R., Hunter, A., Patel, V.B. (Eds.), *Diet Quality. An Evidence-Based Approach*, Vol. 1. Springer/Humana Press, New York, NY, USA, pp. 257–284.
- AOAC International, 2005. Moisture in meat. Official method 950.46. First Action 1950. Official Methods of Analysis of AOAC International (18th ed). AOAC., Gaithersburg, MD, USA.
- Bakircioglu, D., Bakircioglu, Y., Ucar, G., 2011. Determination of some traces metal levels in cheese samples packaged in plastic and tin containers by ICP-OES after dry, wet and microwave digestion. *Food Chem. Toxicol.* 49, 202–207.
- São Bernardo Carvalho, L., Santos Silva, C., Araújo Nóbrega, J., Santos Boa Morte, E., Muniz Batista Santos, D.C., Andrade Korn, M.G., 2020. Microwave induced plasma optical emission spectrometry for multielement determination in instant soups. *J. Food Compos. Anal.* 86, 103376.
- Birla Singh, K., Taneja, S.K., 2010. Concentration of Zn, Cu and Mn in vegetables and meat foodstuffs commonly available in Manipur: A north eastern state of India. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 9, 610–616.
- Bognár, A., Piekarski, J., 2000. Guidelines for recipe information and calculation of nutrient composition of prepared foods (dishes). *J. Food Compos. Anal.* 13, 391–410.
- Bühl, V., Suárez, A., Panizzolo, L., Méndez, C., Cerminara, M., Pistón, M., 2019. Optimization of a classic spectrophotometric method for the determination of heme iron in beef. *Av. En Cienc. E Ing.* 10, 33–40.
- Cabrera, M.C., Saadoun, A., 2014. An overview of the nutritional value of beef and lamb meat from South America. *Meat Sci.* 98, 435–444.
- Cabrera, M.C., Ramos, A., Saadoun, A., Brito, G., 2010. Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from Hereford and Braford steers fed pasture in Uruguay. *Meat Sci.* 84, 518–528.
- Cheng, T., Li, H., Xia, W., Jin, L., Sun, H., 2016. Exploration into the nickel 'microcosmos' in prokaryotes. *Coord. Chem. Rev.* 311, 24–37.
- D'evoli, L., Salvatore, P., Lucarini, M., Nicoli, S., Aguzzi, A., Gabrielli, P., Lombardi-Boccia, G., 2009. Nutritional value of traditional Italian meat-based dishes: influence of cooking methods and recipe formulation. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 60, 38–49.
- de Higuera, J.M., Santos da Silva, A.B., Fernandes de Oliveira, A., de Araujo Nogueira, A. R., 2020d. Multi-elemental determination in meat samples using multi-isotope calibration strategy by ICP-MS. *Food Chem.* 303, 125395.
- Demirezen, D., Uruç, K., 2006. Comparative study of trace elements in certain fish, meat and meat products. *Meat Sci.* 74, 255–260.
- Diaconescu, C., Fintineru, G., Urdes, L., Vidu, L., Vasile, B., Stefan, D., 2013. Influence of cooking methods over the heavy metal and lipid content of fish meat. *Rom. Biotechnol. Lett.* 18, 8279–8283.
- FDA, 2016. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration Retrieved July 26, 2020 from: pp. 903–904 <https://s3.amazonaws.com/public-inspection.federalregister.gov/2016-11867.pdf>.
- Goran, G., Tudoreanu, L., Rotaru, E., Crivineanu, V., 2016. Comparative study of mineral composition of beef steak and pork chops depending on the thermal preparation method. *Meat Sci.* 118, 117–121.
- Higuera, J.M., Silva, A.B.S., Nogueira, A.R.A., 2019. Multi-energy calibration: a practical method for determination of macro and micro nutrients in meat by ICP OES. *J. Braz. Chem. Soc.* 30, 2575–2581.
- Ihedioha, J.N., Okoye, C.O.B., Onyechi, U.A., 2014. Health risk assessment of zinc, chromium, and nickel from cow meat consumption in an urban Nigerian population. *Int. J. Occup. Environ. Health* 20, 281–288.
- Instituto Nacional de Carnes (INAC), 2018. Reporte Mercado Doméstico. Montevideo, Uruguay: Instituto Nacional De Carnes. Retrieved May 2, 2020 from: <https://www.inac.uy/innovaportal/file/17653/1/informe-consumo-mercado-domestico-2018.pdf>
- Jiang, Z., You, Q., Zhang, X., 2019. Medicinal chemistry of metal chelating fragments in metalloenzyme active sites: a perspective. *Eur. J. Med. Chem.* 165, 172–197.
- Kowalska, G., Pankiewicz, U., Kowalsky, R., 2020. Determination of the level of selected elements in canned meat and fish and risk assessment for consumer health. *J. Anal. Methods Chem.* 2020, 1–13.
- Lombardi-Boccia, G., Martínez-Domínguez, B., Aguzzi, A., 2002. Total heme and non-heme iron in raw and cooked meats. *J. Food Sci.* 67, 1738–1741.
- Lombardi-Boccia, G., Lanzi, S., Aguzzi, A., 2005. Aspects of meat quality: trace elements and B vitamins in raw and cooked meats. *J. Food Compos. Anal.* 18, 39–46.
- Lopes, A.F., Alfaia, C.M.M., Partidário, A.M.C.P.C., Lemos, J.P.C., Prates, J.A.M., 2015. Influence of household cooking methods on amino acids and minerals of Barrosã-PDO veal. *Meat Sci.* 99, 38–43.
- Machado, I., Bergmann, G., Pistón, M., 2016a. A simple and fast ultrasound-assisted extraction procedure for Fe and Zn determination in milk-based infant formulas using flame atomic absorption spectrometry (FAAS). *Food Chem.* 194, 373–376.
- Machado, I., Dol, I., Rodríguez-Arce, E., Cecio, M.V., Pistón, M., 2016b. Comparison of different sample treatments for the determination of As, Cd, Cu, Ni, Pb and Zn in globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. subsp. *Cardunculus*). *Microchem. J.* 128, 128–133.
- Magnusson, B., Örnemark, U., 2014. Eurachem Guide: the Fitness for Purpose of Analytical Methods – a Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics (2nd Ed). Retrieved May 2, 2020 from: <http://www.eurachem.org>.
- Milčić, R., Kralj, B., 2003. Determination of Zn, Cu, Cd, Pb, Ni and Cr in some slovenian foodstuffs. *Eur. Food Res. Technol.* 217, 211–214.
- Miller, J.N., Miller, J.C., 2010. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry (6th Ed). Gosport. Ashford Colour Press Ltd., UK.
- Neher, B., Azcarate, S., Camiña, J.M., Savio, M., 2018. Nutritional analysis of Spirulina dietary supplements: optimization procedure of ultrasound-assisted digestion for multielemental determination. *Food Chem.* 257, 295–301.
- NIH, 2011a. Dietary Reference Intakes (DRIs): Tolerable Upper Intake Levels. Retrieved May 2, 2020 from: Elements. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56068/table/summarytables.t8/?report=objectonly>.
- NIH, 2011b. Institute of medicine (US) committee to review dietary reference intakes for vitamin D and calcium. In: Ross, A.C., Taylor, C.L., Yaktine, A.L., Del Valle, B. (Eds.), *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. National Academies Press, Washington, DC, USA. Retrieved May 2, 2020 from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56068/table/summarytables.t3/?report=E2%80%89=E2%80%89ojectonly>.
- Ojezele, O.J., Ojezele, M.O., Adeosun, A.M., 2016. Cooking utensils as probable source of heavy metal toxicity. *Middle-East Journal of Scientific Research* 24, 2216–2220.
- Perelló, G., Martí-Cid, R., Llobet, J.M., Domingo, J.L., 2008. Effects of various cooking processes on the concentrations of arsenic, cadmium, mercury, and lead in foods. *J. Agric. Food Chem.* 56, 11262–11269.
- Pinto, A.M.T.P., Boeira, A.C.S., Lisboa, M.T., Medina, A.L., Ribeiro, A.S., Vieira, M.A., 2019. Development of an analytical method for the determination of metals in chicken breast by microwave induced plasma optical emission spectrometry (MIP-OES). *J. Braz. Chem. Soc.* 30, 2395–2403.
- Pretorius, B., Schönfeldt, H.C., Hall, N., 2016. Total and haem iron content lean meat cuts and the contribution to the diet. *Food Chem.* 193, 97–101.
- Purchas, R.W., Rutherford, S.M., Pearce, P.D., Vather, R., Wilkinson, B.H.P., 2004. Cooking temperature effects on the forms of iron and levels of several other compounds in beef semitendinosus muscle. *Meat Sci.* 68, 201–207.
- Ramos, A., Cabrera, M.C., Saadoun, A., 2012. Bioaccessibility of Se, Cu, Zn, Mn and Fe, and heme iron content in unaged and aged meat of Hereford and Braford steers fed pasture. *Meat Sci.* 91, 116–124.
- Reartes, G.A., Di Paola Naranjo, R.D., Eynard, A.R., Muñoz, S.E., 2016. Cooking methods and the formation of PhIP (2-amino, 1-methyl, 6-phenylimidazo[4,5-b] pyridine) in the crust of the habitually consumed meat in Argentina. *Food Chem. Toxicol.* 92, 88–93.
- Rhee, M.S., Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., 2004. Variation in palatability and biochemical traits within and among eleven beef muscles. *J. Anim. Sci.* 82, 534–550.
- Seideman, S.C., Cross, H.R., Crouse, J.D., 1989. Carcass characteristics, sensory properties, and mineral content of met form bulls and steers. *J. Food Qual.* 11, 497–507.
- United States Department of Agriculture (USDA), 2019. Uruguay: Livestock and Products Annual. Retrieved May 2, 2020 from: <https://www.fas.usda.gov/data/uruguay-livestock-and-products-annual-4>.
- United States Department of Agriculture (USDA), 2006. USDA Revises Recommended Cooking Temperatures for All Whole Cuts of Meat to 145°F. Retrieved July 26, 2020 from: www.fsis.usda.gov/shared/PDF/Use_a_Food_Thermometer.pdf?redirecthttp=true.
- Whittaker, J.W., 2010. Metal uptake by manganese superoxide dismutase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* 1804, 298–307.
- Williams, C.B., Amais, R.S., Fontoura, B.M., Jones, B.T., Nóbrega, J.A., Donati, G.L., 2019. Recent developments in microwave-induced plasma optical emission spectrometry and applications of a commercial Hammer-cavity instrument. *Trac Trends Anal. Chem.* 116, 151–157.
- Zambelli, B., Ciarli, S., 2013. Nickel and human health. In: Sigel, A., Sigel, H., Sigel, R.K.O. (Eds.), *Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases*. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 321–357.

Estudio del contenido de selenio en carne vacuna luego del proceso de cocción

Study of the selenium content in beef after the cooking process

Estudo do teor de selênio na carne bovina após o processo de cozimento

RECIBIDO: 1/9/2019 → APROBADO: 4/12/2019 ✉ mpiston@fq.edu.uy

✉ PISTÓN, MARIELA (1); SILVA, JAVIER (1); SUÁREZ, ANALÍA (1); BELLUZZI, MARCELO (1); IAQUINTA, FIORELLA (1); PANIZZOLO, LUIS (2); MÉNDEZ, CARLOS (3); CERMINARA, MARCELO (4)

- (1) GRUPO DE ANÁLISIS DE ELEMENTOS TRAZA Y DESARROLLO DE ESTRATEGIAS SIMPLES PARA PREPARACIÓN DE MUESTRAS (GATPREM). ÁREA QUÍMICA ANALÍTICA, DEC, FACULTAD DE QUÍMICA. UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.
- (2) ÁREA DE QUÍMICA DE ALIMENTOS, CYTAL, FACULTAD DE QUÍMICA. UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.
- (3) INSTITUTO NACIONAL DE CARNES (INAC), GERENCIA DE CONTRALOR, ÁREA DE INOCUIDAD, MONTEVIDEO, URUGUAY.
- (4) IMERL, FACULTAD DE INGENIERÍA; DMMCC, FACULTAD DE CIENCIAS ECONÓMICAS. UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.
-

RESUMEN

Se determinó el contenido de selenio (Se) antes y después del proceso de cocción en tres cortes de carne vacuna (asado, cuadril y bola de lomo) provenientes de 20 animales. Los distintos cortes fueron sometidos a dos puntos de cocción. Cada corte fue dividido en varias porciones y se realizó la cocción en plancha y horno. El tratamiento de las muestras consistió en una digestión asistida con microondas y posterior determinación de Se mediante espectrometría de emisión atómica con plasma inducido por microondas acoplado a generación de hidruros (HG-MIP OES). El método analítico propuesto fue validado, resultó adecuado para el fin definido y presentó ventajas respecto a los métodos habitualmente utilizados en los laboratorios de análisis.

Los puntos de cocción se establecieron evaluando la pérdida de peso (desde 8 hasta 35%). Los resultados indican que la carne vacuna aporta entre 20 y 26% del

requerimiento diario de Se de un adulto. Este porcentaje se mantiene sin cambios significativos aun luego de una pérdida de peso de hasta un 35%, por lo que se concluye que la cocción no influye en el aporte de selenio a la dieta.

PALABRAS CLAVE: Selenio, valor nutricional, carne vacuna, cocción.

ABSTRACT

Selenium (Se) content was determined, before and after the cooking process, in three cuts of beef (rib plate, rump and knuckle) from 20 animals. Each cut was divided into several portions and cooked in a cooking plate and oven. Sample preparation consisted of a microwave assisted digestion and subsequent determination of Se by means of atomic emission spectrometry with microwave induced plasma coupled with hydride generation (HG-MIP OES). The proposed analytical method was validated and resulted suitable for the purpose presenting advantages compared to the standard methods commonly used in food analysis.

The cooking points were established by evaluating the weight loss (from 8 to 35%). The results indicate that beef provides between 20 and 26% of the daily intake requirement of Se of an adult. It was observed that this percentage remains without significant changes even after a weight loss of up to 35%, thus concluding that cooking does not influence the contribution to the diet of this trace element.

KEYWORDS: Selenium, nutritional value, beef, cooking.

RESUMO

O teor de selênio (Se) foi determinado antes e após o processo de cozimento em três cortes de carne bovina (placa de costela, quadril e lombo) de 20 animais. Os diferentes cortes foram submetidos a dois pontos de cozimento. Cada corte foi dividido em várias porções e o cozimento foi feito em chapa e forno. O tratamento da amostra consistiu em digestão assistida por microondas e subsequente determinação de Se por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido por microondas acoplado à geração de hidreto (HG-MIP OES). O método analítico proposto foi validado e adequado para a finalidade proposta, apresentando vantagens sobre os métodos comumente utilizados nos laboratórios de análise.

Os pontos de cozimento foram estabelecidos avaliando-se a perda de peso (de 8 a 35%). Os resultados indicam que a carne bovina fornece entre 20 e 26% da necessidade diária de Se de um adulto. Essa porcentagem permanece sem alterações significativas, mesmo após uma perda de peso de até 35%, portanto, conclui-se que o cozimento não influencia a contribuição do selênio na dieta.

PALAVRAS-CHAVE: Selênio, valor nutricional, carne bovina, cozimento.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha desarrollado en forma creciente el conocimiento acerca del papel que tienen en la nutrición humana diversos minerales traza (micronutrientes). Existe actualmente considerable investigación acerca del rol que juega el selenio (Se) en relación con la salud humana. El Se forma parte de metaloenzimas involucradas en diversos procesos metabólicos, tanto en animales como en vegetales (Hefnway, et al., 2008). Existen estudios que demuestran la asociación entre la deficiencia de Se y la aparición de ciertas enfermedades, entre ellas la enfermedad de Keshan (una afección cardíaca), la Enfermedad de Kashin-Beck (una osteoartropatía) y el cretinismo mixedematoso endémico, que causa retardo mental (Thomson, 2004; National Institute of Health, NIH, 2019). El RDA (Recommended Dietary Allowance) aceptado en Estados Unidos va desde 20 µg/día para niños de hasta 3 años hasta 55 µg/día para adultos. Estos valores se ven incrementados en el caso de la mujer embarazada o en el período de lactancia (Food and Nutrition Board, 2011).

La carne constituye una importante fuente de proteínas de alto valor biológico que proporciona todos los aminoácidos indispensables, fundamentales para el crecimiento, desarrollo y mantenimiento de las funciones vitales que permitirían un adecuado bienestar y salud. Es también una excelente fuente de micronutrientes (vitaminas, minerales y oligoelementos), que a menudo son limitantes en la dieta, como la vitamina A, hierro, zinc, cobre, selenio y otros compuestos bioactivos (Alfaia, et al., 2013).

Según las últimas estadísticas publicadas por el Instituto Nacional de Carnes (INAC), el 85% de las exportaciones de carne uruguaya corresponden a carne bovina (Instituto Nacional de Carnes, 2018). Además, Uruguay es uno de los países que más carne consume en el mundo, 100,9 kg/hab./año de las especies bovina, ovina, aviar y porcina, y se destaca en particular la carne bovina, con 59,2 kg/hab./año (Instituto Nacional de Carnes, 2018).

Los tratamientos térmicos pueden mejorar el valor nutricional de la carne, haciendo que aumente la bioaccesibilidad de los nutrientes o se generen pérdidas de estos por procesos de lixiviación (Lombardi Boccia, et al., 2005; Lopes, et al., 2015; Goran, et al., 2016). Existen dos estrategias generales de cocción por transferencia de calor que incluyen cocinar con calor seco o calor húmedo. Las cocciones en seco utilizan aire caliente para conducir el calor y los alimentos se cuecen en su propio jugo. Tales métodos de cocción incluyen horneado, asado y asado a la parrilla, métodos de cocción tradicionales que causan cambios inevitables en la cantidad de nutrientes disponibles (Alfaia, et al., 2013; Campo, et al., 2013; Domínguez, et al., 2015). Lombardi-Boccia et al. (2005) reportaron los porcentajes de retención para Fe, Cu y Zn de algunas carnes de Italia según el método de cocción y hallaron que para estos elementos el contenido total variaba luego de determinadas cocciones (Lombardi-Boccia, et al., 2005).

Se ha estudiado la distribución geográfica de los niveles de selenio en los suelos y se ha encontrado que algunos países, de forma notable China, presentan bajos niveles, asociados con la aparición de las enfermedades mencionadas anteriormente (Saadoun, et al., 2019). Investigadores uruguayos reportaron niveles de Se en cortes de carne vacuna de la raza Hereford y Bradford y encontraron valores de Se en

carne cruda que podrían aportar hasta el 100% del requerimiento diario para un adulto si se consumen 100 g (Cabrera, et al., 2010; Ramos, et al., 2012; Cabrera y Saadoun, 2014). No obstante, no se han encontrado reportes que aporten información sobre el contenido de este nutriente en el alimento luego de algún tipo de cocción.

Con el objetivo de evaluar cómo afecta la cocción aplicada a algunos cortes de carne vacuna de consumo popular en Uruguay, se estudió el porcentaje de retención del micronutriente luego de este proceso. Para ello se utilizó la ecuación descrita por Bognár y Piekarski (2000), en la que se relaciona la pérdida de peso que sufre el corte luego de la cocción y la concentración de selenio determinada (Bognár y Piekarski, 2000).

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

Las muestras de carne vacuna fueron proporcionadas por el Instituto Nacional de Carnes (INAC). La correspondencia entre la carne y sistema de alimentación fue corroborada mediante la conexión del Sistema Electrónico de Información de la Industria Cárnica (SEIIC) y el Sistema Nacional de Identificación Ganadera (SNIG), que garantizan la trazabilidad de todo el proceso. De allí también se obtuvo que la edad media de los animales fue de 25 meses (novillos y vaquillonas), con un peso en el rango de 109-153 kg (promedio de 139 kg) y procedentes principalmente de los departamentos de Soriano, Lavalleja y Florida.

Se muestrearon 20 medias canales con 36 horas de maduración sanitaria. El 50% de las medias canales provenían de animales con sistemas de alimentación terminados en pasturas, mientras que el otro 50% fue terminado a grano (feedlot). En el cuarteo se obtuvieron el asado, la herradura y el corte pistola. En las Figuras 1 y 2 se muestran los cortes de uno de los muestreos. El asado y el corte pistola fueron identificados mediante etiquetado para obtener correspondencia entre los cortes a bajar en el desosado (cuadril y bola de lomo) y los asados previamente separados. La etiqueta de trazabilidad (SEIIC) acompañó los cortes en todo el proceso (Figura 3).



Figura 1. Medias canales previo al cuarteo.



Figura 2. Pistolas en cuarteo.



Figura 3. Cortes identificados con etiqueta de trazabilidad (SEIIC).

En el desosado se bajaron los cortes y se retiraron de la línea de producción junto con la etiqueta de trazabilidad. Se extrajo una porción de aproximadamente 500 g de cada corte asado (centro de la parrilla costal), cuadril (Bíceps Femoral) y bola lomo (músculo Vastus Intermedius). Las porciones se etiquetaron, se envasaron al vacío y se llevaron a Facultad de Química en conservadoras refrigeradas.

En el laboratorio se realizó el deshuesado y desgrasado utilizando cuchillos de acero inoxidable (440C), y posteriormente se dividió cada corte en tres porciones de aproximadamente 100 g. Una de las porciones se analizó cruda y las otras dos se sometieron a cocción para luego ser analizadas. Tanto la porción cruda como las cocidas se homogenizaron y trituraron con picadora de cuchillas y fueron conservadas en tubo tipo Falcon® en freezer (-18 °C) hasta el momento del análisis.

Una vez trituradas las muestras se secaron en estufa a 103 °C según método AOAC 950.46 para obtener el producto seco y el contenido de humedad. Las muestras secas fueron molidas hasta obtener un polvo fino con molino de cuchillas (AOAC International, 2005).

Cocciones

Las cocciones se realizaron en plancha de aluminio con recubrimiento antiadherente Teflón® (Ufesa, modelo GR7451) y en horno eléctrico (Delne, modelo Te-5604 i). Se

pesaron las muestras de cada corte (asado, cuadril y bola de lomo) antes y después de la cocción para establecer la pérdida de peso en todos los casos. El proceso general consistió en sellar el corte en una plancha, como primera etapa, hasta alcanzar una determinada temperatura en el centro (Tabla 1) y posteriormente terminar la cocción en horno. La temperatura se controló en el centro de los cortes mediante una sonda de temperatura (ThermaQ): la temperatura de la plancha fue 300 °C y la del horno fue en promedio 250 °C.

Se buscó obtener dos puntos de cocción: poco cocido y muy cocido. En la Tabla 1 se resumen las condiciones de temperaturas de cocción según el corte para ambos puntos y en las Figuras 4 a 6 se muestra el aspecto del corte luego de la cocción.

TABLA 1. Condiciones de cocción. PC: poco cocido; MC: muy cocido.

Corte	Punto de cocción	Tiempo en plancha (min)	Temperatura al finalizar sellado (°C)	Tiempo en el horno (min)	Temperatura al sacar del horno (°C)	Tiempo total de cocción (min)
Asado	PC	4	50	5	75	9
Asado	MC	8	74	14	98	22
Cuadril	PC	8	24	12	53	20
Cuadril	MC	12	26	28	83	40
Bola de lomo	PC	7	34	11	64	18
Bola de lomo	MC	12	38	32	82	44



Figura 4. Cortes de asado poco cocido (izquierda) y muy cocido (derecha).



Figura 5. Cortes de cuadril poco cocido (izquierda) y muy cocido (derecha).



Figura 6. Cortes de bola de lomo poco cocidos (izquierda) y muy cocido (derecha).

Reactivos e instrumentación

El material utilizado fue previamente descontaminado utilizando una disolución de HNO_3 (Merck pa) 10% v/v. Los patrones de calibración de selenio se prepararon a partir de una disolución comercial de concentración 1000 mg L^{-1} (Carlo Erba). Se utilizó agua calidad I según norma ASTM (resistividad no menor a $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) obtenida de un sistema de purificación de agua Millipore®. La digestión de las muestras se realizó con HNO_3 ($4,5 \text{ mol L}^{-1}$). El ácido se obtuvo mediante un proceso de destilación *sub-boiling* (Milestone, subClean) a partir de ácido comercial. Todos los demás reactivos utilizados fueron de calidad para análisis o superior.

Para la evaluación de la veracidad de las determinaciones analíticas se utilizaron dos materiales de referencia certificados: uno de músculo bovino ERM-BB184 (provisto por el Institute for Reference Materials and Measurements, Comisión Europea) y otro de hígado bovino (SRM 1577c provisto por The National Institute of Standards and Technology, NIST).

Para las digestiones se utilizó un digestor de microondas (CEM, Mars 6) provisto con 12 vasos del tipo Easy Prep Plus®. Las determinaciones analíticas fueron realizadas en un espectrómetro de emisión atómica con plasma inducido por microondas (Agilent 4210 MIP OES) equipado con una antorcha estándar, y cámara de nebulización multimodo (MSIS®, Agilent) para generación de hidruros.

Tratamiento de las muestras

El tratamiento de las muestras desarrollado consistió en una digestión asistida por microondas: 0,5 g de muestra (seca y molida) se trataron con 10 mL de HNO_3 diluido $4,5 \text{ mol L}^{-1}$; el uso de ácidos diluidos para digestiones de muestras complejas ha sido validado por nuestro grupo en trabajos previos (Machado, et al., 2016). El programa de digestión fue: 15 minutos de calentamiento hasta 200°C , mantenimiento en 200°C durante 15 minutos y enfriamiento posterior hasta temperatura ambiente (potencia 400-1800 W).

Una vez concluida la digestión se realizó una etapa de prerreducción para convertir cuantitativamente todo el analito al estado de oxidación IV para la posterior formación del hidruro correspondiente. Para esta etapa se tomaron 5 mL del digerido y se agregó HCl 37% (m/v) (relación muestra/ácido 1:1) en Erlenmeyer. La mezcla

se colocó en plancha calefactora (a ebullición controlada) durante 1 hora, posteriormente se dejó enfriar y se completó el volumen con agua ultrapura. La reducción en línea para la generación del hidruro correspondiente (H_2Se) fue realizada con NaBH_4 2% (m/v) en NaOH 0,5% (m/v).

Determinación de selenio

Las determinaciones se realizaron con la técnica de espectrometría de emisión atómica con generación de hidruros (HG MIP OES), a la longitud de onda de 196,026 nm. Las condiciones operativas fueron: caudal de nitrógeno $0,45 \text{ L min}^{-1}$ (obtenido a partir de un generador Agilent 4107); velocidad de la bomba peristáltica 30 rpm; posición de observación de la antorcha -70, y tiempo de lectura 10 s.

Los patrones, las muestras y los blancos fueron sometidos al proceso de prerreducción descrito antes de la medición. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado.

Dado que se trata de una técnica que no se utiliza como método estándar para esta determinación se realizó la correspondiente validación. Se evaluaron los principales parámetros de desempeño (linealidad, límites de detección y cuantificación, precisión y veracidad), siguiendo las recomendaciones de la Guía Europea de validación Eurachem (Magnusson y Örnemark, 2014).

Los porcentajes de retención de selenio luego de las cocciones fueron calculados utilizando la guía de Bognár y Piekarski publicada en el año 2000. Se trata de una guía informativa muy completa sobre la evaluación y cálculo de los porcentajes de retención de minerales (y otros nutrientes) en platos preparados luego de algún tipo de cocción, tomando como referencia una porción de 100 g y contemplando en el cálculo la pérdida de peso de la pieza durante el proceso de cocción (Bognár y Piekarski, 2000). La ecuación utilizada fue:

$$\%R = \frac{\text{Contenido del nutriente}/100 \text{ g de carne cocida} \times \text{peso (g) de la carne cocida}}{\text{Contenido del nutriente}/100 \text{ g de carne cruda} \times \text{peso (g) de la carne cruda}} \times 100$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Validación del método analítico

El uso de la técnica HG-MIP OES para la determinación de Se en muestras complejas es novedoso y se requiere la validación completa del método analítico antes de utilizarlo para cualquier aplicación. Se trata de una técnica alternativa a las utilizadas en los métodos citados en el compendio de normas AOAC Internacional (AOAC 986.15; AOAC International, 2016) que evita el uso de gases inflamables y costosos en el laboratorio. En la Tabla 2 se resumen los parámetros de desempeño obtenidos.

TABLA 2. Parámetros de desempeño de la validación analítica (Magnusson y Örnemark, 2014).

Parámetro	Resultado
Linealidad (rango estudiado)	5,0 - 50 µg L ⁻¹
Límite de detección	0,032 mg kg ⁻¹ (1,6 µg L ⁻¹)
Límite de cuantificación	0,098 mg kg ⁻¹ (4,9 µg L ⁻¹)
Precisión (RSD %, n = 6)	10%
Veracidad (% de recuperación comparado con el valor certificado de los materiales de referencia certificados)	76 - 93%

Cuando se trabajó con determinaciones del orden de las partes por billón (ppb), de acuerdo con la relación de Horwitz, la precisión y la veracidad obtenidas fueron buenas (Rivera y Rodríguez, 2010). El límite de cuantificación obtenido fue apropiado para la determinación de Se en muestras de carne, y se pudo determinar niveles muy bajos de este elemento, lo cual no había sido reportado antes en la literatura con esta técnica. Los resultados obtenidos fueron adecuados para los fines propuestos porque demuestran que el método es exacto (preciso y veraz) para la determinación de Se a nivel de trazas y que se puede utilizar como alternativa a los métodos estándar.

Contenido de selenio en carnes antes y después de la cocción

Se realizaron las determinaciones de Se en 180 muestras (tres cortes, crudos, poco cocidos y cocidos de 20 animales) y se obtuvieron los resultados que se resumen en la Tabla 3.

TABLA 3. Contenido de Se en diferentes cortes de carne vacuna (n = 20 para cada corte). Los resultados se expresan como el promedio de todos los animales ± desviación estándar (base seca).

Corte	Crudo (mg/100 g)	Poco cocido (mg/100 g)	Muy cocido (mg/100 g)
Asado	0,038 ± 0,004	0,038 ± 0,004	0,044 ± 0,004
Cuadril	0,041 ± 0,004	0,043 ± 0,004	0,047 ± 0,005
Bola de lomo	0,044 ± 0,005	0,041 ± 0,005	0,044 ± 0,005

Los resultados se expresan en base seca a los efectos de que puedan compararse entre los tres cortes, y puede observarse que el contenido de Se es bastante similar

en todos ellos. Estadísticamente se verificó que los valores, comparando los promedios entre cortes y según el punto de cocción, no difieren significamente entre sí mediante test $t(0,05;20)$ ($t_{\text{tabla}} = 2,023$; $t_{\text{calculado}} = -0,118$).

El contenido en los cortes crudos es significativamente menor a los reportados por varios autores en publicaciones anteriores en carnes crudas uruguayas (Cabrera, et al., 2010; Ramos, et al., 2012; Cabrera y Saadoun, 2014). Estos autores reportaron niveles de selenio en el rango de 0,049 a 0,130 mg/100 g en base fresca (aproximadamente 0,20 a 0,52 mg/100 g base seca), sin embargo, se debe tener en cuenta que la variabilidad en el contenido de Se es muy grande según la edad de los animales y la zona donde fueron alimentados con pasturas. Como ejemplo se puede mencionar que durante los muestreos se recibieron cortes de dos animales de mayor edad (53 y 56 meses) y se notó un aumento en el contenido de Se (estos no fueron considerados en los resultados presentados). Por otra parte, los trabajos mencionados no se refieren a los mismos cortes, ni se describe claramente la edad de los animales. Los resultados obtenidos sí son concordantes con los reportados a nivel internacional (0,021-0,033 mg/100 g) en las tablas de alimentos noruegas NORFOODS (Norwegian Food Safety Authority, 2018) y con niveles reportados en Europa (Demirezen y Uruc, 2006).

No se observaron diferencias significativas entre los valores obtenidos de los animales cuya terminación fue con pastura o con grano (verificado mediante test t-Student, nivel de confianza 95%, $n = 10$ animales de cada sistema de alimentación).

A los efectos de evaluar la retención de Se en los diferentes cortes se tomaron como valores de partida aquellos obtenidos para los cortes crudos y se comparó con los obtenidos en los cortes cocidos. La ecuación de Bognár y Piekarski se aplicó para cada una de las muestras analizadas según la pérdida de peso de cada muestra durante la cocción. Los resultados obtenidos (porcentaje de retención, %R) según el corte y el punto de cocción se presentan en la Tabla 4. Cabe mencionar que resulta muy difícil alcanzar en todas las muestras el mismo porcentaje de pérdida de peso en cada punto, por lo cual se fue registrando y sistematizando el proceso para obtener siempre dos puntos bien definidos, tanto por el aspecto como por la temperatura, al final del proceso en el centro del corte (Tabla 1). Los resultados de %R obtenidos para cada corte y para cada punto de cocción se promediaron y se expresan en la Tabla 4. El procesamiento de las carnes se realizó tomando en consideración cómo lo haría un consumidor en su domicilio o en un restaurante. No se agregaron sal ni otros condimentos.

TABLA 4. Porcentaje de retención promedio de Se en cortes de carne vacuna según dos puntos de cocción (Bognár y Piekarski, 2000).

Corte	Poco cocido (pérdida de peso entre 8 y 12%)	Muy cocido (pérdida de peso entre 20 y 33%)
Asado	101 ± 8	104 ± 8
Cuadril	91 ± 7	83 ± 7
Bola de lomo	86 ± 7	90 ± 7

Considerando los resultados obtenidos y su correspondiente incertidumbre asociada, se puede observar que en general no existen pérdidas significativas del nutriente, aun cuando se alcanza un porcentaje de pérdida de masa de 33% (lo cual se corresponde con un punto bien cocido).

Información nutricional

Existen guías que reportan valores de ingestas dietéticas de referencia (IDR) y que contienen tablas con los niveles de ingesta recomendada de los oligoelementos, entre otras informaciones relevantes para la nutrición. El valor de IDR es el nivel promedio diario de ingesta suficiente por medio de la dieta necesario para satisfacer los requerimientos de nutrientes de casi todas las personas sanas (97-98%) en un grupo (National Institute of Health, NIH, 2011).

En la Tabla 5 se muestran los valores de IDR para Se según la etapa de la vida.

TABLA 5. IDR de Selenio en la dieta según las edades, expresadas en microgramos por día. Los grupos por edades se refieren a hombres y mujeres.

Grupos según edades	IDR µg/día
1 a 3 años	20
4 a 8 años	30
9 a 13 años	40
14 hasta más de 70 años	55
Embarazadas	60
Mujeres en etapa de lactancia	70

Los estudios sobre valor nutricional de un alimento deben evaluar las concentraciones de los nutrientes en la forma en que el alimento puede ser consumido, en el caso de la carne vacuna se consume cocida (el punto de cocción es a gusto del consumidor). Al analizar los resultados obtenidos, según el contenido de Se en cada corte y la cocción y la IDR por edades, es posible tener una idea del porcentaje de la necesidad diaria que este alimento puede cubrir. Para esto se consideró una porción de 100 g de carne en todos los casos. En la Tabla 6 se presentan los resultados.

TABLA 6. Porcentaje de la IDR cubierta según franja etaria por porción de 100 g del alimento cocido. PC: poco cocido, MC: muy cocido.

Edades					
Cortes	4 a 8 años	9 a 13 años	14 hasta más de 70 años	Embarazadas	Mujeres en etapa de lactancia
Asado PC	37	27	20	18	16
Asado MC	44	33	24	22	19
Cuadril PC	41	31	22	20	18
Cuadril MC	48	36	26	24	20
Bola de lomo PC	39	29	21	19	17
Bola de lomo MC	44	33	24	22	19

Con base en estos resultados se demuestra que la carne vacuna es una buena fuente de Se en la dieta. Esto se reafirma considerando que la bioaccesibilidad del elemento en carne es entre el 75 y 91% (Ramos, et al., 2012). En un país como Uruguay es frecuente que se consuman más de 100 g en una comida por parte de un adulto y que esto ocurra con frecuencia en la semana. Si se considera que los niños de entre 4 y 8 años ya consumen este alimento en diversas formas, el aporte es aún mayor.

El consumir la carne menos cocida, lo que generalmente se denomina “bien jugosa”, con el centro de color rojo, o hacerlo en forma más cocida, “bien cocida” o “pasada”, no afecta significativamente el contenido del elemento en el alimento.

Este tipo de estudios se podrá extender a un mayor número de muestras, pero por las tendencias que se muestran en este trabajo es de esperar que se mantengan. Si bien el trabajo abarca pocas muestras, estas se han obtenido a lo largo de un período de casi dos años, y dado que el selenio es un elemento muy variable en los suelos y pasturas según la estación y región geográfica, es importante que se realicen en períodos cortos de tiempo y a largo plazo para hacer un seguimiento a la situación e informar al sector productivo de los resultados.

CONCLUSIONES

Se pudo concluir que la concentración de selenio en los cortes luego de la cocción no se vio significativamente afectada, por lo cual el valor nutricional se mantuvo. Se confirmó que la carne vacuna es una buena fuente de selenio en la dieta.

Adicionalmente se desarrolló y validó un método analítico simple y económico para la determinación de selenio en muestras de carne vacuna.

Este tipo de estudios se consideran de importancia para el sector productivo y para la población en general debido a que el valor nutricional de los alimentos debe evaluarse en las formas en las que estos habitualmente se consumen.

RECONOCIMIENTOS

Se agradece a la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC-Proyecto Vinculación con el Sector Productivo-1608).

Al Programa de Ciencias Básicas (PEDECIBA).

Al Frigorífico Pando – Ontilcor S.A por proporcionar las muestras.

Al Dr. Juan Burghi (INAC) y la Ing. Paz Xavier (INAC) por su colaboración en la obtención de las muestras.

A los estudiantes Valentina Meléndrez y Fabián Bermúdez.

REFERENCIAS

- Alfaia, C.M., Lopes, A.F. y Prates, J.A.M., 2013. *Diet quality*. New York: Human Press. ISBN: 978-1-4614-7338-1.
- AOAC International, 2005. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 18ed. Gaithersburg: AOAC. Official Method 950.46, First Action 1950.
- AOAC International, 2016. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 20va ed. Maryland: AOAC. Official Method 986.15, first action 1986-final action 1988.
- Bognár, A. y Piekarski, J., 2000. Guidelines for Recipe Information and Calculation of Nutrient Composition of Prepared Foods (Dishes). En: *Journal of food composition and analysis*, 13(4), pp.391-410. <https://doi.org/10.1006/jfca.2000.0922>.
- Cabrera, M., Ramos, A., Saadoun, A. y Brito, G., 2010. Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from Hereford and Braford steers fed pasture in Uruguay. En: *Meat Science*, 84(3), pp.518–52. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.10.007>.
- Cabrera, M.C. y Saadoun, A., 2014. An overview of the nutritional value of beef and lamb meat from South America. En: *Meat Science*, 98(3), pp.435-444. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.033>.
- Campo, M., Muela, E., Olleta, E., Moreno, L., Santaliestra-Pasías, A., Mesana, M. y Sañudo, C., 2013. Influence of cooking method on the nutrient composition of Spanish light lamb. En: *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(2), pp.185–190. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.05.010>.
- Demirezen, D. y Uruc, K., 2006. Comparative study of trace elements in certain fish, meat and meat products. En: *Meat Science*, 74(2), pp.255-260. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.03.012>.
- Domínguez, R., Borrajo, P. y Lorenzo, J., 2015. The effect of cooking methods on nutritional value of foal meat. En: *Journal of Food Composition and Analysis*, (43), pp.61–67. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.04.007>.
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies, 2011. Dietary reference intakes (DRIs): recommended dietary allowances and adequate intakes, elements [En línea]. En: Institute of Medicine, Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium, Ross A.C., Taylor C.L., Yaktine A.L., et al., (eds.). *Dietary reference intakes for Calcium and*

- Vitamin D*. Washington: National Academic Press. [Consulta: 27 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56068/table/summarytables.t3/?report=objectonly>.
- Goran, G.V., Tudoreanu, L., Rotaru, E. y Crivineanu, V., 2016. Comparative study of mineral composition of beefsteak and pork chops depending on the thermal preparation method. En: *Meat Science*, (118), pp.117-121. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.031>.
- Hefnway, A.E. y Pérez, J.T., 2008. Selenio y salud animal. Importancia, deficiencia, suplementación y toxicidad. En: *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar*, (11), pp.153–165. <https://doi.org/10.25110/arqvet.v11i2.2008.2571>.
- Instituto Nacional de Carnes (INAC), 2006. *Handbook of uruguayan meat* [En línea]. Montevideo: Instituto Nacional de Carnes [Consulta: 18 de agosto de 2019]. Disponible en: http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/2043/1/manual_corregido_2a_edicion.pdf.
- Instituto Nacional de Carnes (INAC), 2018. *Reporte mercado doméstico* [En línea]. Montevideo: Instituto Nacional de Carnes [Consulta: 18 de agosto de 2019]. Disponible en: <http://www.inac.uy/innovaportal/file/16190/1/informe-consumo-de-carnes-mercado-domestico---cierre-2017-vf.pdf>.
- Lombardi-Boccia, G., Lanzi, S. y Aguzzi, A., 2005. Aspects of meat quality: trace elements and B vitamins in raw and cooked meats. En: *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(1), pp.39-46. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2003.10.007>.
- Lopes, A., Alfaia, C., Partidário, A., Lemos, J. y Prates J., 2015. Influence of household cooking methods on amino acids and minerals of Barrosã-PDO veal. En: *Meat Science*, (99), pp.38–43. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.08.012>.
- Machado, I., Dol, I., Rodríguez-Arce, E., Cecio, V. y Pistón, M., 2016. Comparison of different sample treatments for the determination of As, Cd, Cu, Ni, Pb and Zn in globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. subsp. *Cardunculus*). En: *Microchemical Journal*, (128), pp.128–133. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.04.016>.
- Magnusson, B. y Örnemark, U., 2014. *Eurachem guide: the fitness for purpose of analytical methods – A laboratory guide to method validation and related topics*. 2a ed. Torino: Eurachem. ISBN: 978-91-87461-59-0.
- National Institute of Health (NIH), 2011. *Dietary reference intakes (DRIs): recommended dietary allowances and adequate intakes, elements* [En línea]. Bethesda: National Institute of Health, [Consulta: 27 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56068/table/summarytables.t3/?report=objectonly>.
- National Institute of Health (NIH), 2019. *Selenium, fact sheet for health professionals* [En línea]. Bethesda: National Institute of Health. [Consulta: 27 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Selenium-HealthProfessional/>.
- Norwegian Food Safety Authority, 2018. *The Norwegian food composition table* [En línea]. Oslo: Norwegian Food Safety Authority, [Consulta: 23 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://www.norwegianfoodcomp.no/poultry-and-meat-g3>.

- Ramos, A., Cabrera, M.C. y Saadoun, A., 2012. Bioaccessibility of Se, Cu, Zn, Mn and Fe, and heme iron content in unaged and aged meat of Hereford and Braford steers fed pasture. En: *Meat Science*, 91(2), pp.116-124. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.001>.
- Rivera, C.A. y Rodríguez, M.R., 2010. Uso de la ecuación de Horwitz en laboratorios de ensayo NMX-EC-17025-IMNC-2006. En: CENAM. *Simposio de Metrología 2010*. Santiago de Querétaro, México (27-29 de octubre de 2010) [En línea]. Santiago de Querétaro: CENAM. [Consulta: 6 de setiembre de 2019]. Disponible en: <https://www.cenam.mx/sm2010/info/pviernes/sm2010-vp03c.pdf>.
- Saadoun, A., Cabrera, M.C., Terevino, A., Del Puerto, M. y Zaccari, F., 2019. Nutritional value of bovine meat produced on pasture. En: *Encyclopedia of Food Security and Sustainability*, (2), pp.189-196.
- Thomson, C.D., 2004. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. En: *European Journal of Clinical Nutrition*, 58(3), pp.391-402. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601800>.

OPTIMIZACIÓN DE UN MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO CLÁSICO PARA LA DETERMINACIÓN DE HIERRO HEMO EN CARNE VACUNA

OPTIMIZATION OF A CLASSIC SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF HEME IRON IN BEEF

**Valery Bühl*¹, Analía Suárez¹, Luis Panizzolo², Carlos Méndez³,
Marcelo Cerminara⁴, Mariela Pistón*¹**

Universidad de la República, Facultad de Química, (1) Grupo de Análisis de Elementos Traza y Desarrollo de Estrategias Simples para Preparación de Muestras (GATPREM), Química Analítica, (2) Área Química de Alimentos Av. Gral. Flores 2124, 11800 Montevideo - Uruguay

(3) Instituto Nacional de Carnes, Gerencia de Contralor, Área de Inocuidad, Rincón 545, Montevideo - Uruguay

(4) Universidad de la República, Facultad de Ingeniería, Instituto de Matemática y Estadística, Av. Julio Herrera y Reissig 565, Montevideo - Uruguay

*autor de contacto (e-mail: vbuhl@fq.edu.uy; mpiston@fq.edu.uy)

Recibido: 14/01/2019 - Evaluado: 21/02/2019 - Aceptado: 28/03/2019

RESUMEN

Este trabajo describe la optimización de un método espectrofotométrico clásico ("método Hornsey") para determinar hierro hemo en carnes. Este método extrae hierro hemo de la carne mediante agitación con acetona ácida, maceración en la oscuridad y determinación espectrofotométrica a 640nm sobre el filtrado. Es ampliamente utilizado, pero su descripción original no detalla la influencia de algunas variables. En numerosos trabajos se determina hierro hemo según el "método Hornsey" utilizando diferentes estrategias de agitación y tiempos de incubación diversos. Estas variables se optimizaron mediante un diseño multivariado de tipo central compuesto. Con el método optimizado se analizaron distintos cortes de carne vacuna para evaluar su valor nutricional en cuanto a niveles de hierro biodisponible. A partir de una optimización racional, se obtuvieron las condiciones experimentales adecuadas para realizar un método analítico, considerado de referencia, de forma sistemática y protocolizada en los laboratorios para evaluar el contenido de hierro hemo en carnes.

ABSTRACT

This work describes the optimization of a classical spectrophotometric method ("Hornsey's method") for the determination of heme iron in beef. This method extracts heme iron from meat by stirring with acid acetone, maceration in the dark and subsequent spectrophotometric determination at 640 nm over the filtrate. It is widely used, however, in the original description details about the influence of some variables are not explained. Numerous studies mentioning the determination of heme iron according to "Hornsey's method" use different stirring strategies and incubation times. These variables were optimized through a multivariate design of a central composite type. The optimized method was applied to analyze different beef cuts to evaluate their nutritional value in terms of bioavailable iron levels. From a rational optimization, the appropriate experimental conditions were obtained to perform an analytical method, considered as a reference, in a systematic and protocolized way in the laboratories to evaluate the content of heme iron in meats.

Palabras clave: hierro hemo, carne bovina, optimización, diseño experimental multivariado
Keywords: heme iron, beef, multivariate experimental designs, optimization Hornsey's method

INTRODUCCIÓN

El hierro (Fe) es un micronutriente esencial para los seres vivos, interviene en el crecimiento, el desarrollo neurocognitivo y el funcionamiento del sistema inmunológico. Participa en la síntesis de hemoglobina, mioglobina y ciertas enzimas.

Es de destacar que existe una enfermedad que se produce por deficiencia de Fe, la anemia ferropénica. Esta enfermedad es el trastorno nutricional más común y extendido en todo el planeta. Se trata de la única enfermedad carencial que además de afectar a la salud de gran número de niños y mujeres de los países en desarrollo, es también muy prevalente en los países industrializados (Haas & Brownlie, 2001; Grantham & Ani, 2001; OMS, 2018). Latinoamérica no es ajena a esta problemática (Assandri *et al.*, 2018).

Los seres humanos obtienen los requerimientos necesarios de este elemento por medio de la dieta. El Fe está presente en los alimentos en dos formas químicas diferentes: hemo y no hemo.

Las carnes rojas, las carnes de ave y de los peces contienen Fe en la forma hemo y no hemo (Urdampilleta *et al.*, 2010). La cantidad de Fe absorbida depende de estas diferentes formas químicas (hemo o no hemo) siendo mucho mayor la absorción de la forma hemo (20-30 %) con respecto a la no hemo (1-20 %) (Forrellat *et al.*, 2000; Kalpalathika *et al.*, 1991). La carne vacuna es una fuente de hierro hemo para la dieta.

Diversos estudios han demostrado que cocinar, congelar, congelar-descongelar y almacenar carnes, disminuye el contenido de hierro hemo y aumenta el no hemo.

Uruguay es uno de los países donde más carne se consume en el mundo, en particular carne bovina ubicándose en el segundo puesto del ranking mundial con 59,2 kg de carne/habitante/año. Según las últimas estadísticas publicadas por el Instituto Nacional de Carnes (INAC) el 85% de las exportaciones de carnes de nuestro país corresponden a carne bovina (INAC, 2017).

El objetivo de este trabajo fue optimizar un método para la determinación de Fe hemo y luego aplicarlo para la determinación en tres cortes de carnes de consumo popular en Uruguay, con el objetivo de evaluar si existen diferencias significativas en los niveles de Fe hemo entre los cortes. Además, considerando que la carne se consume cocida, esta comparación se realiza sobre muestras sometidas a un proceso de cocción.

MATERIALES Y METODOS

Se tomó como base el método empírico de Hornsey, que realiza la determinación mediante espectrometría de absorción molecular a 640 nm. Hornsey empleó una disolución de acetona al 80% acidificada para convertir la mioglobina y hemoglobina en ácido hematinico (Hornsey, 1956).

El método original consiste en picar finamente 10 g de carne, agitar y dejar macerar en la oscuridad a temperatura ambiente durante 60 minutos, con 50 mL de acetona acidificada (acetona:agua destilada:HCl concentrado (90:8:2)), se filtra y se mide la absorbancia en una celda de vidrio de 1,00 cm de camino óptico a 640 nm. En estas condiciones se obtienen los pigmentos totales en la carne como hematina, multiplicando por un factor de 680 se obtiene la concentración total de pigmentos totales en la carne expresado en ppm de hematina. Para obtener el contenido de Fe hemo (mg kg^{-1}) se divide entre la masa pesada y se multiplica por un factor de 0,0882.

Los factores utilizados, provienen del trabajo de Hornsey, siendo $A_{640} = abC$, donde A_{640} es la absorbancia de la muestra, **a** es la absortividad, **b** el camino óptico (1cm) y **C** la concentración de la solución absorbente (en mol L^{-1}). La absortividad es una constante que depende de la longitud de onda y de la naturaleza de la sustancia y el peso fórmula (PF) del material absorbente. La absortividad milimolar (ϵ) es el producto de la absortividad y

el peso fórmula, siendo ϵ_{640} del Fe hemo, en acetona ácida, según condiciones de Hornsey $4,8 \text{ Lcm}^{-1}\text{mmol}^{-1}$. Considerando que se utilizan 2 g de muestra, 10 mL de disolvente (factor de dilución es 5) y que el PF de la hematina ácida es $652,2 \text{ g mol}^{-1}$.

Sustituyendo: **C** pigmentos totales (mg kg^{-1}) en la carne como hematina = $A_{640} \times 5 \times 652,2 / 4,8$ se obtiene que $C = A_{640} \times 680$ (estrictamente 679,17, pero se suele utilizar 680). El factor de 0,0882 surge de la relación PA_{Fe} ($55,845 \text{ g mol}^{-1}$) / $\text{PF}_{\text{hematina}}$ ($633,49 \text{ g mol}^{-1}$). Así el Fe hemínico es calculado como: $\text{Fe hemínico} (\text{mg kg}^{-1}) = \text{pigmentos totales} \times 0,0882$.

El método de desarrollado por Hornsey sigue siendo al día de hoy, el más reportado para la determinación de Fe hemo en carnes (Hornsey, 1956; Lee *et al.*, 1998; Lombardi-Boccia *et al.*, 2002; Purchas *et al.*, 2003; Pourkhalili *et al.*, 2013; Pretorius *et al.*, 2016), sin embargo en la descripción original y en la literatura no se describen detalles sobre la influencia de la agitación ni el tiempo de incubación, por lo que aparecen numerosos trabajos que mencionan realizar la determinación de Fe hemo según el "método Hornsey" pero con diferentes estrategias de agitación y tiempos de incubación diversos.

Debido a que la matriz carne es muy heterogénea dependiendo del tipo de corte, los métodos analíticos deben ser optimizados de forma tal de obtener resultados confiables considerando diferentes variables. Para ello se recurre a diseños experimentales multivariados de forma de obtener los mejores resultados en términos de parámetros de desempeño de los métodos con el menor número de experimentos. A partir de este trabajo se establece un procedimiento normalizado para esta determinación analítica.

El método optimizado se aplicó a muestras de carne vacuna en tres cortes diferentes (asado, cuadril y bola de lomo). Las muestras se analizaron crudas y cocidas. Los resultados obtenidos permiten evaluar el valor nutricional de los cortes desde el punto de vista del contenido de Fe en su forma biodisponible.

Las muestras de carne analizadas fueron de 20 animales (cada muestra de un animal diferente de entre 25 y 50 meses de edad de las razas Aberdeen Angus y Hereford) y de cada uno se analizaron 3 cortes, crudos y cocidos. Los cortes seleccionados fueron asado, cuadril y bola de lomo (Figura 1). La selección se realizó teniendo en cuenta que estos cortes son los de mayor consumo en Uruguay.

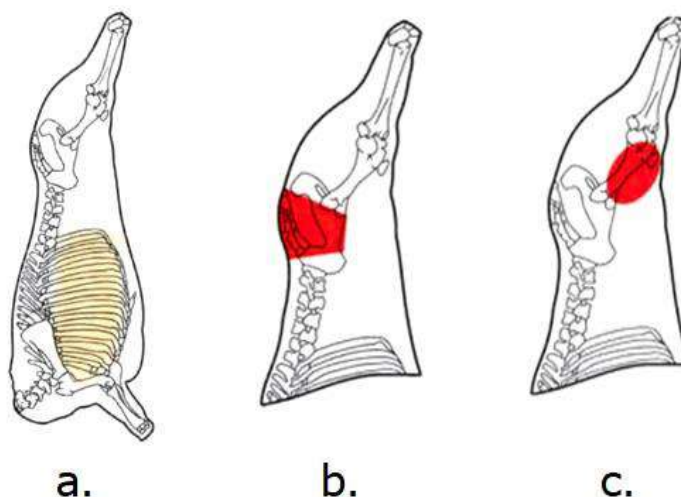


Fig. 1: a. asado; b. cuadril; c. bola de lomo

Estas muestras fueron proporcionadas por el Instituto Nacional de Carnes (INAC), las mismas fueron recibidas envasadas al vacío. Aproximadamente 100 g de cada corte (asado, cuadril y bola de lomo), se desgrasaron, deshuesaron (en el caso del asado) y se trituraron con molino de cuchillas.

Se conservaron en freezer (-18°C) hasta el momento del análisis. Las cocciones se realizaron en plancha primeramente calentada a 300°C (sellado rápido alcanzando el centro del corte 42°C) y posteriormente se culminó la cocción en horno a 270 °C (hasta alcanzar una temperatura en el centro del corte de 82-85 °C). La pérdida de masa de los cortes cocidos fue de entre 31 y 33 %. Se trató de reproducir condiciones para todos los cortes realizando un procedimiento de cocción similar a como se cocina la carne en restaurantes de nuestro país.

La humedad de las muestras se determinó mediante el método de la AOAC 950.46 B (AOAC, 2005).

Todos los materiales fueron sumergidos en ácido nítrico 10% v/v durante toda la noche y luego enjuagado con agua ultrapura. El agua ultrapura de (ASTM Tipo I, 18,2 MΩcm de resistividad) fue obtenida mediante un purificador Millipore Simplicity 185. Ácido clorhídrico concentrado, 37% m/v (Merck). Todos los reactivos utilizados fueron de calidad analítica o superior. La acetona ácida: se preparó en las siguientes proporciones acetona (9): agua (0,8): HCl concentrado (0,2).

Se pesan de 2,0000 g de muestra de carne finamente picada en un tubo cónico de 50 mL (tipo Falcon®) y se agregan 10,00 mL de acetona ácida. Se agita en un agitador orbital (Daihan Sho-2D) a 200 rpm, se mantiene en oscuridad y luego se filtra por filtro Whatman No. 2. Las determinaciones analíticas se realizaron a 640 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Hewlett Packard 8453.

Se realizó un diseño experimental multivariado de tipo central compuesto de 2 variables en 5 niveles (Massart *et al.*, 1998). Las variables consideradas para la optimización fueron el tiempo de agitación y el tiempo de maceración según se muestra en la tabla 1.

Tabla 1: Variables y niveles ensayados en los experimentos de optimización.

Variable	Niveles				
tiempo de agitación (s)	5	15	30	45	60
tiempo de incubación (min)	15	30	45	60	75

Tabla 2. Resultados obtenidos luego de realizar un diseño experimental central compuesto (2 variables, 5 niveles)

Nº de Experimento	Agitación (s)	Tiempo de maceración (min)	Respuesta Fe hemo (mg kg ⁻¹) *
1	5	45	13,50 ± 0,80
2	15	30	10,21 ± 0,72
3	15	60	13,36 ± 0,99
4	30	15	7,64 ± 0,18
5	30	45	16,10 ± 0,72
6	30	75	14,54 ± 0,24
7	45	30	11,88 ± 0,94
8	45	60	13,20 ± 0,72
9	60	45	14,40 ± 0,92

*Respuesta= promedio (n=2) ± s (desviación estándar)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se presentan los experimentos realizados y las respuestas obtenidas. Se consideró como respuesta a evaluar la concentración de Fe hemo obtenida luego de realizar cada experimento.

En la figura 2 se muestra la superficie de respuesta generada a partir de los experimentos realizados utilizando el software *Statistica*® a partir de esta representación se pueden predecir las condiciones óptimas para las variables estudiadas.

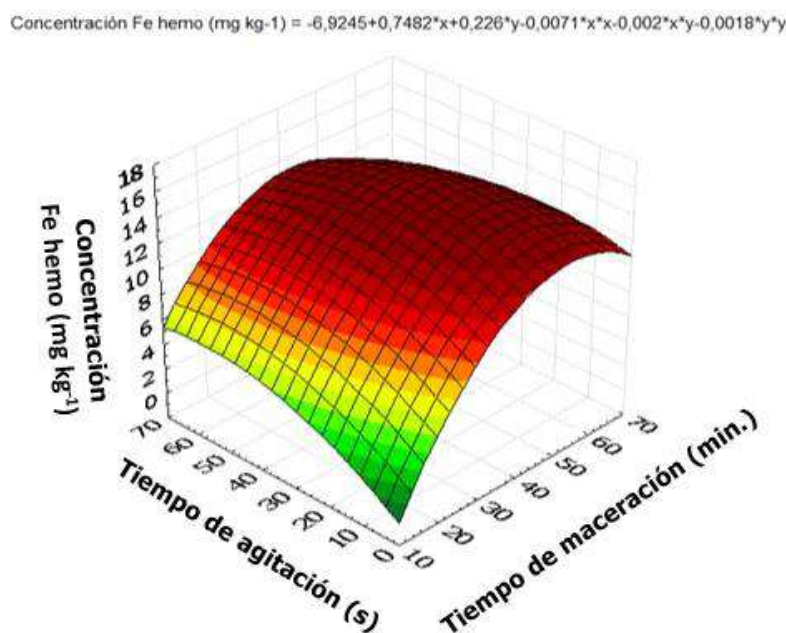


Fig. 2: Superficie de respuesta para las variables en estudio

Según los resultados obtenidos, las mejores condiciones fueron: tiempo de agitación entre 30 y 40 segundos y un tiempo de incubación de 45 minutos. Con una máxima respuesta para el experimento 5 (tabla 2).

La optimización realizada confirmó que el tiempo de maceración en la oscuridad reportado en la publicación original de Hornsey, es adecuado (se encuentra dentro del rango óptimo), sin embargo, se puede realizar también con muy buenos resultados con un tiempo de 45 minutos. Además, se pudo verificar que una agitación sistemática en el rango de 30 a 40 s produce resultados reproducibles, el método original no menciona ningún detalle sobre esta operación y según este estudio no parece tener mayor relevancia en la respuesta del método concluyéndose que la variable de mayor influencia y crítica es el tiempo de maceración. Por otra parte, el método se puede realizar con menor cantidad de muestra y volumen de disolvente (manteniendo las proporciones entre ambos). La precisión en todos los casos fue mejor que 10 % (expresada como desviación estándar relativa, RSD %).

Una vez optimizado el método se aplicó a la determinación de Fe hemo a los tres cortes antes mencionados. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado.

En la Figura 3 se muestran las concentraciones promedio obtenidas de Fe hemo, expresados en mg kg⁻¹ y en base seca para poder comparar los valores entre las diferentes muestras.

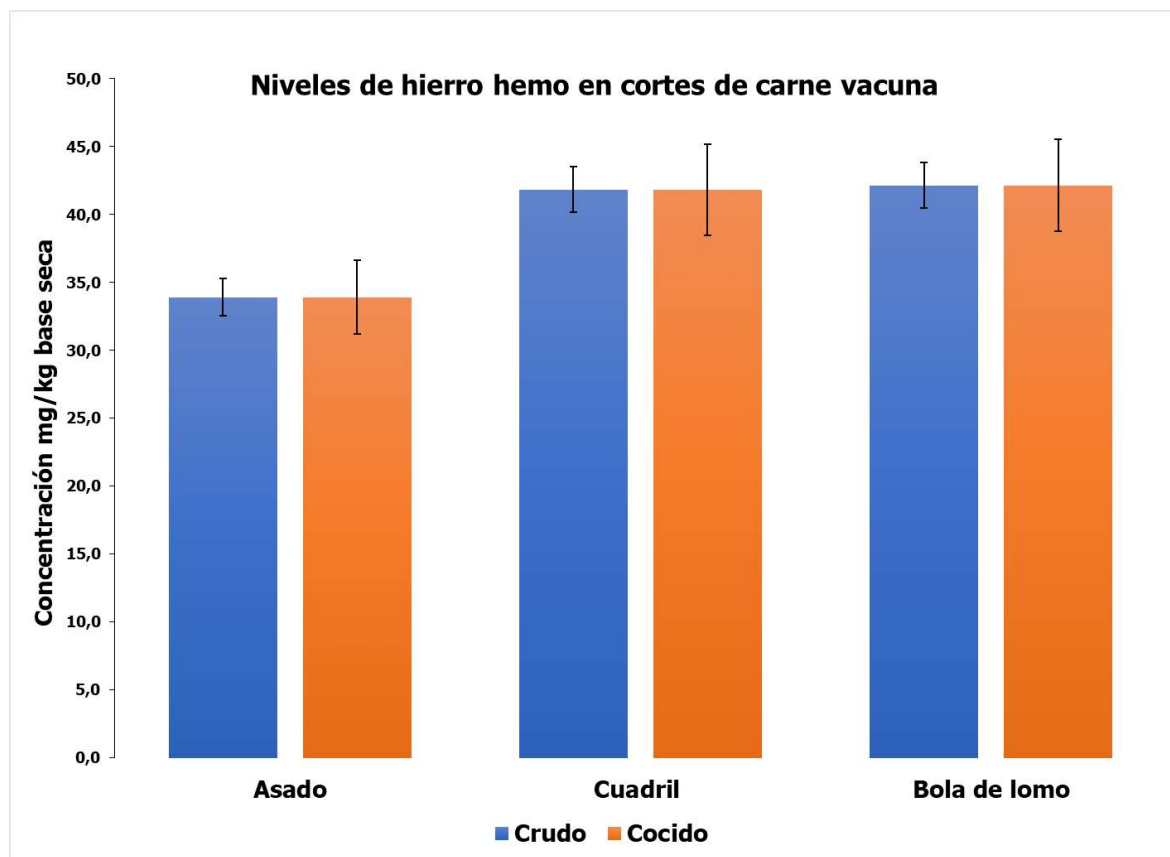


Fig. 3: Niveles de Fe hemo en cortes de asado, cuadril y bola de lomo de carne vacuna uruguaya (n=20)

El contenido de Fe total fue determinado en estas muestras mediante espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS). El contenido de Fe-hemo respecto al contenido total estuvo entre un (75 – 98) %, lo cual concuerda con la literatura y con el hecho de que la carne vacuna es una fuente de importante de Fe bioaccesible para la dieta (Lombardi-Boccia, 2002; Pretorius, 2016).

Como se puede observar los cortes cuadril y bola de lomo presentan mayores niveles de Fe hemo, esto es esperable considerando que contienen mayor nivel de grasa que los otros cortes por lo que su valor nutricional en términos de contenido de Fe biodisponible es menor.

En cuanto a la variación del contenido de Fe hemo en carnes crudas y cocidas es de esperar una disminución del mismo debido al proceso de calentamiento, esto se observa en el caso del asado. Sin embargo, para los demás cortes, en las muestras analizadas, no se observó una pérdida significativa de Fe hemo. Cabe mencionar que el punto de cocción considerado es un punto que los consumidores suelen llamar “muy cocido” o “bien pasado” por lo cual se realizó el estudio en condiciones que podrían considerarse extremas. Esto podría indicar que una cocción aún en un punto muy cocido no disminuye en forma significativa el contenido de este nutriente.

Este tipo de estudios resulta de utilidad para evaluar el valor nutricional de alimentos utilizando un método analítico optimizado y normalizado para ser utilizado en forma rutinaria y sistemática.

CONCLUSIONES

Se optimizó de forma racional un método analítico clásico, ampliamente referenciado, explorando las variables de influencia y se obtuvo un procedimiento simple y sistematizado para ser utilizado de forma rutinaria para la evaluación del contenido de Fe hemo en carne vacuna.

En las muestras analizadas en las que se aplicó el método optimizado se encontró que los cortes cuadril y bola de lomo (cortes sin hueso y de bajo contenido graso) contienen niveles mayores de Fe biodisponible (Fe hemo) que el corte de asado, uno de los de consumo más popular en Uruguay. Además, en los cortes cocidos de cuadril y bola de lomo el contenido de Fe hemo se mantiene sin diferencias significativas respecto a los cortes crudos.

AGRADECIMIENTOS

A las agencias financiadoras Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC), PEDECIBA-Química. Al Instituto Nacional de Carnes (INAC) – Gerencia de Contralor. Al Frigorífico Pando – Ontilcor S.A por proporcionar las muestras y al Dr. Juan Burghi (INAC) y la Ing. Paz Xavier (INAC) por su colaboración en la obtención de las muestras.

REFERENCIAS

A.O.A.C. (2005), "*Official methods of analysis*". Association of Official Analytical Chemists (N° 950.46 B). William Horwitz (ed). 13a ed. Washington.

Assandri, E., Skapino, E., Da Rosa, D., Alemán, A. & Acuña, A.M. (2018). Anemia, estado nutricional y parasitosis intestinales en niños pertenecientes a hogares vulnerables de Montevideo. *Arch. Pediatr Urug*, 89 (2), 86-98.

Grantham, S. & Ani, C. (2001). A review of studies on the effect of iron deficiency and cognitive development in children. *J. Nutr*, 131 (2), 649S-668S.

Forrellat, M., Gautier du Défaix, H. & Fernández, N. (2000). Metabolismo del hierro. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*, 16 (3), 149-160.

Haas, J. & Brownlie, T. (2001). Iron deficiency and reduced work capacity: a critical review of the research to determine a causal relationship. *J. Nutr*, 131 (2S-2), 676S- 690S.

Hornsey, H.C. (1956). The color of cooked cured pork, I. Estimation of the nitric oxide-heme pigments. *J. Sci. Food Agric*, 7, 534–540.

INAC (2017). Principales Indicadores y determinantes del consumo de carnes - Cierre 2017. Recuperado, febrero 22, 2019, de Instituto Nacional de Carnes, Montevideo, Uruguay. Sitio web: <https://www.inac.uy/innovaportal/file/16196/1/informe-consumo-de-carnes-mercado-domestico---cierre-2017-vf.pdf>

Kalpalathika, P.V.M., Clark, E.M. & Mahoney, A.W. (1991). Heme iron content in selected ready-to-serve beef products. *J. Agric. Food Chem.*, 39 (6), 1091–1093.

Lee, B.J., Hendricks, D.G. & Cornforth, D.P. (1998). Antioxidant Effects of Carnosine and Phytic Acid in a Model Beef System. *J. Food Sci.*, 63 (3), 394-398.

Lombardi-Boccia, G., Martínez-Domínguez, B., Aguzzia, A. & Rincón-León, F. (2002). Optimization of heme iron analysis in raw and cooked red meat. *Food Chem*, 78, 505-510.

Massart, D.L., Vandeginste, B.G.M., Buydens, L.M.C., De Jong, S., Lewi, P.J. & Smeyers-Verbeke, J. (1998). *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics*. Volumen 20. Part A., Capítulo 24, pp. 701-737. Amsterdam: Elsevier Science.

OMS (2018). Carencia de micronutrientes. Recuperado, febrero 18, 2019, de Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza. Sitio web: <https://www.who.int/nutrition/topics/ida/es/>

Pourkhalili, A., Mirlohi, M. & Rahimi, E. (2013). Heme Iron Content in Lamb Meat Is Differentially Altered upon Boiling, Grilling, or Frying as Assessed by Four Distinct Analytical Methods. *Sci World J*, 8, 374030.

Pretorius, B., Schönfeldt, H.C. & Hall, N. (2016). Total and haem iron content lean meat cuts and the contribution to the diet. *Food Chem*, 193, 97-101.

Purchas, R.W., Simcock, D.C., Knight, T.W. & Wilkinson, B.H.P. (2003). Variation in the form of iron in beef and lamb meat and losses of iron during cooking and storage. *Int J Food Sci Technol*, 38, 827-837.

Urdampilleta, A., Martínez, J.M. & González, P. (2010). Intervención dietético-nutricional en la prevención de la deficiencia de hierro. *Nutr. clín. diet. hosp.*, 30 (3), 27-41.



6^{to} ENCUENTRO NACIONAL DE QUÍMICA

ENAQUI 6



Se certifica que el trabajo

Influencia de la pérdida de peso en cortes de carne vacuna según el grado de cocción en el contenido de Cu y Zn. Analía Suárez, Luis Panizzolo, Carlos Méndez, Marcelo Cerminara, Mariela Pistón

fue presentado en el **6^{to} Encuentro Nacional de Química - ENAQUI 6**, realizado del 16 al 18 de octubre de 2019 en el *Complejo Torre de las Comunicaciones*, Montevideo, Uruguay.

Ricardo Faccio

Presidente del Comité Organizador
ENAQUI 6

Gloria Serra

Coordinadora alterna por
PEDECIBA Área Química

SELENIUM DETERMINATION USING HG-MIP OES IN BEEF AND LIVESTOCK FEED



Javier Silva,¹ Marcelo Belluzzi,¹ Fiorella Iaquinta,¹ Analía Suárez,¹ Florencia Cora Jofré,² Marianela Savio,² Mariela Pistón^{1*}

¹Grupo de Análisis de Elementos Traza y Desarrollo de Estrategias Simples para Preparación de Muestras (GATPREM). Analytical Chemistry. Faculty of Chemistry.

Universidad de la República. Montevideo, Uruguay

²Instituto de Ciencias de la Tierra y Ambientales de La Pampa (INCITAP), Santa Rosa, La Pampa, Argentina

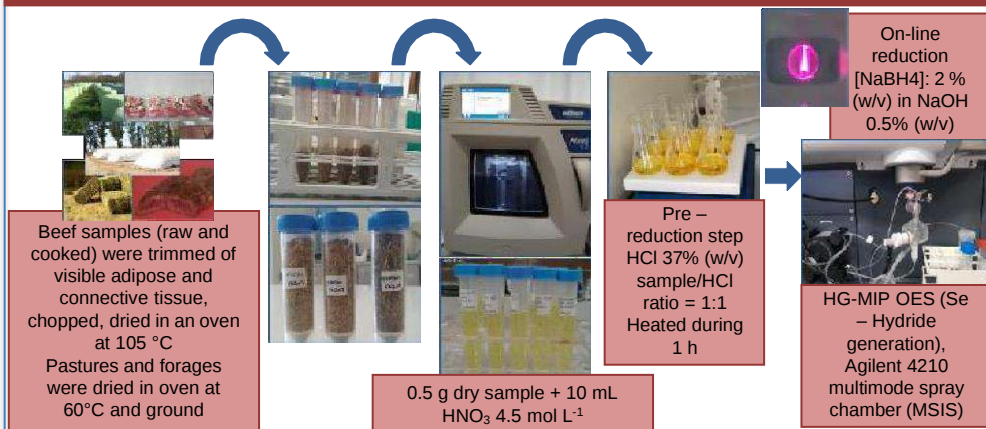
jsilva@fq.edu.uy

INTRODUCTION

Uruguay is one of the main beef exporters and has one of the highest indexes of internal consumption. The production system is based on native pastures, each animal has an estimated area of pastures of 15000 m². Meat has an important role in human diet providing essential nutrients. Beef is a selenium (Se) source in the diet and this nutrient level depends on the food received by livestock.

The aim of the work was the development of an analytical method for selenium determination in beef and livestock feed by HG-MIP OES

EXPERIMENTAL SECTION



RESULTS AND DISCUSSION

Selenium levels in the analyzed samples were 0.10 to 0.45 mg kg⁻¹ for beef (dry basis) and from 0.11 to 0.18 mg kg⁻¹ for pastures and forages (dry basis).

Selenium content remain practically unchanged in cooked meat, so its nutritional value is maintained after cooking.

In pastures and forages the content of Se is above that referenced in bibliography for Uruguay.

Figures of merit

Linearity -studied range	5.0- 50 µg L ⁻¹
LOD (3.3s)	32 µg kg ⁻¹ (1.6 µg L ⁻¹)
LOQ (10s)	98 µg kg ⁻¹ (4.9 µg L ⁻¹)
Precision (%RSD)	10
Trueness (%R CRM)	70 - 93

Figures of merit were adequate for the proposed objectives. LOD is comparable to that obtained by ETAAS (LOD =1.6 µg L⁻¹).

CONCLUSIONS

The analytical method developed was successfully applied to beef and vegetable samples using a common sample preparation procedure and an economical technique such as MIP OES achieving very low detection limits for Se determination by coupling hydride generation.

ACKNOWLEDGEMENTS

COMPARISON OF ALKALINE METHODS FOR THE EXTRACTION OF CU AND ZN IN BEEF SAMPLES



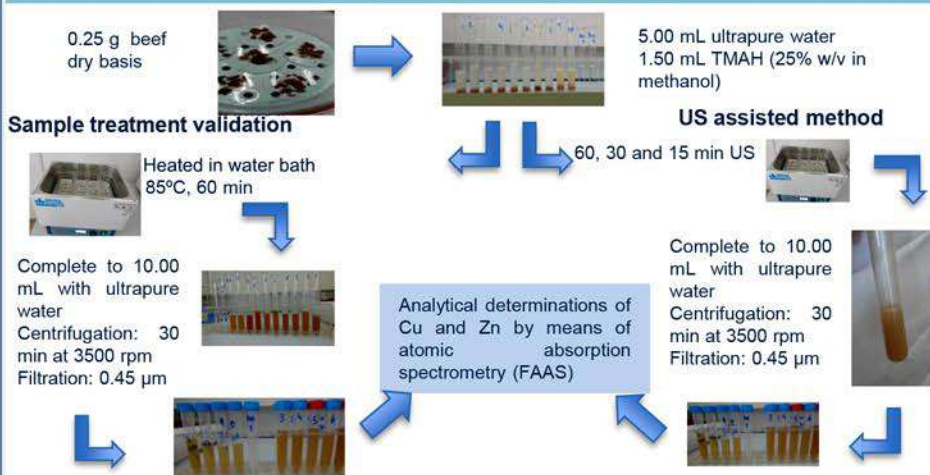
Fiorella laquinta^{1*}, Ignacio Machado¹, Analía Suárez¹, Mariela Pistón¹

¹Grupo de Análisis de Elementos Traza y Desarrollo de Estrategias Simples para Preparación de Muestras (GATPREM). Analytical Chemistry. Faculty of Chemistry. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay
fiaguinta@fq.edu.uy

INTRODUCTION

Uruguay is one of the main meat producers in the world. In order to establish beef quality, it is necessary to determinate Cu and Zn due to their relevance in biological systems. Alkaline digestions using tetramethylammonium hydroxide (TMAH) reported good results for animal tissue solubilization and subsequent determination of metals. An alkaline sample treatment method was previously validated for the determination of several trace elements using TMAH and heating in a water bath. We evaluated an alternative ultrasound (US) assisted method in alkaline media for the extraction of Cu and Zn in beef samples and different CRM. Recovery was the figure of merit used to evaluate the different method performance.

EXPERIMENTAL SECTION



RESULTS

Heating using water bath (60 min)

Samples	Cu (% R)	Zn (% R)
CRM 012	17%	71%
CRM 022	11%	67%
CRM 028	100%	76%
Real beef	88%	71%

Heating using 30 min US

Samples	Cu (% R)	Zn (% R)
CRM 012	84%	75%
CRM 022	80%	75%
CRM 028	56%	22%
Real beef	58%	14%

US- assisted method (60 min)

Samples	Cu recov	Zn recov
CRM 012	87%	82%
CRM 022	71%	75%
CRM 028	33%	76%
Real beef	28%	13%

US- assisted method (15 min)

Samples	Cu recov	Zn recov
CRM 012	47%	46%
CRM 022	72%	54%
Real beef	5%	17%

CRM 012 Bovine Liver SRM 1577c NIST
 CRM 022 CRM Bovine Liver Embrapa-RM-Agro-E3001a

CRM 028 Bovine Muscle ERM-BB184
 Real beef - acid microwave assisted digestion

CONCLUSIONS

We concluded that alkaline US assisted extraction in alkaline media is promising for the determination of these elements. On the other hand, the validated method using TMAH and heating in water bath was more efficient for the proposed objectives.

ACKNOWLEDGEMENTS

Se deja constancia que el trabajo científico:

Contenido de selenio en cortes de carne vacuna según el punto de cocción

PISTÓN, Mariela; SILVA, Javier; BELLUZZI, Marcelo; SUÁREZ, Analía; IAQUINTA, Fiorella; MÉNDEZ, Carlos; CERMINARA, Marcelo;
PANIZZOLO, Luis

ha sido presentado en la modalidad ePoster en la 9ª edición del Simposio Internacional de Innovación y Desarrollo de Alimentos, organizado por Latitud – Fundación LATU, y desarrollado los días 2, 3 y 4 de octubre de 2019 en Montevideo, Uruguay.

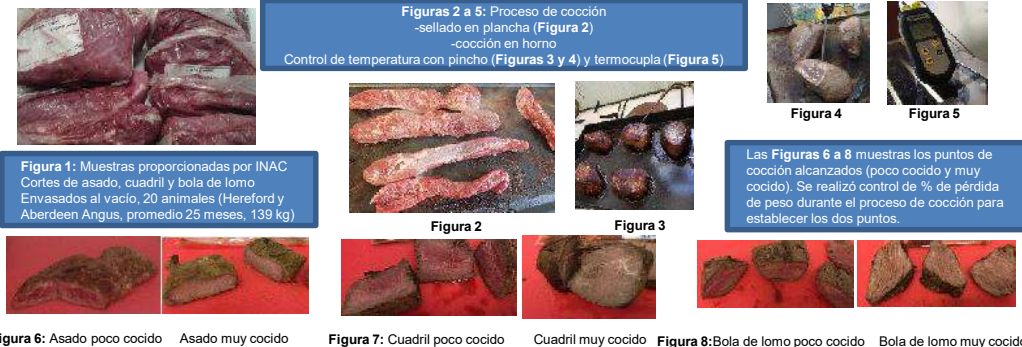
A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Rosa Márquez Romero", with a long horizontal line underneath.

Rosa Márquez Romero, M.Sc.
por Comité Científico Innova 2019

Contenido de selenio en cortes de carne vacuna según el punto de cocción

PISTÓN, Mariela (1); SILVA, Javier (1); BELLUZZI, Marcelo (1); SUÁREZ, Analía (1); IAQUINTA, Fiorella (1); MÉNDEZ, Carlos (3); CERMINARA, Marcelo (4); PANIZZOLO, Luis (2). (1) GATPREM- Facultad de Química. (2) CyTAL- Facultad de Química. (3) INAC Gerencia de Contralor. (4) IMERL, DMCC, F. Ing./ FCE.

En las últimas décadas se ha desarrollado en forma creciente el conocimiento acerca del papel que juegan en la nutrición humana diversos minerales traza (micronutrientes). Existe actualmente considerable investigación acerca del rol que juega el selenio (Se) en relación con la salud humana. El Se, forma parte de metaoligosomas involucrados en diversos procesos metabólicos, tanto en animales como en vegetales. El RDA (*Recommended Dietary Allowance*) aceptado en Estados Unidos va desde 20 µg/día para niños de hasta 3 años hasta 55 µg/día para adultos. La carne es una excelente fuente de micronutrientes (vitaminas, minerales y oligoelementos) y otros compuestos bioactivos. Según estadísticas publicadas por el INAC, Uruguay es uno de los países que más carne consumen en el mundo, 100,9 kg/hab./año considerando las especies bovina, ovina, aviar y porcina, en particular destacándose la carne bovina con 59,2 kg/ hab./año (INAC, 2017). Los tratamientos térmicos pueden o bien mejorar el valor nutricional de la carne, haciendo que aumente la biodisponibilidad de los nutrientes o generar pérdidas de estos por procesos de lixiviación. Con el objetivo de evaluar cómo afecta la cocción aplicada a algunos cortes de carne vacuna, se estudió el porcentaje de retención del selenio luego de este proceso. En base a los resultados obtenidos, se discute cómo afecta el proceso de cocción en el aporte de selenio a la dieta.



En la **Figura 9** se muestra, en forma de secuencia, el procesamiento de la muestra (cruda y cocida). Trituración, secado y molinada. Se realiza una digestión asistida con microondas (0,5 g de la muestra + 10 mL HNO₃, 4,5 mol L⁻¹) hasta obtener una disolución límpida que posteriormente es sometida a un proceso de pre-reducción. La pre-reducción consiste en tomar 5 mL del digesto+ 5 mL HCl (37% m/v), calentamiento en plancha durante 1h y luego de enfriar y llevar a volumen con agua ultrapura se realizan las determinaciones de selenio mediante espectrometría de emisión atómica con plasma inducido por microondas acoplado a generación de hidruros (HG-MIP-OES, Agilent 4210). En la **Tabla 1** se resumen los resultados de la validación del método analítico.



Bognár y Piekarski publicaron en el año 2000 una guía informativa muy completa sobre la evaluación y cálculo de los porcentajes de retención de minerales (y otros nutrientes) en platos preparados luego de algún tipo de cocción, tomando como referencia una porción de 100 g y normalizándolo según la pérdida de peso de la pieza durante el proceso de cocción (Bognár & Piekarski, 2000). Este porcentaje de retención se calcula, en el caso de carne, como:

% R = Contenido del nutriente/100 g de carne cocida x peso (g) de la carne cocida x 100
Contenido del nutriente/100g de carne cruda x peso (g) de la carne cruda

En base a esta relación se determinaron los %R para los tres cortes evaluados y en los dos puntos de cocción, los resultados se muestran en la **Tabla 2**. Puede observarse que la retención de selenio es prácticamente completa aún con una pérdida de masa de 33 % (considerado muy cocido).

Tabla 4: Porcentaje de la IDR cubierta por porción de 100 g (PC: poco cocido; MC: muy cocido)

Cortes	Edades				
	4 a 8 años	9 a 13 años	14 hasta más de 70 años	embarazadas	mujeres en etapa de lactancia
Asado PC	37	27	20	18	16
Asado MC	44	33	24	22	19
Cuadril PC	41	31	22	20	18
Cuadril MC	48	36	26	24	20
Bola de lomo PC	39	29	21	19	17
Bola de lomo MC	44	33	24	22	19

Tabla 1: Parámetros de desempeño del método analítico

Parámetro (HG-MIP OES)	Resultado
Linealidad (rango estudiado)	5,0-50 µg L ⁻¹
Límite de detección	0,032 mg kg ⁻¹ (1,6 µg L ⁻¹)
Límite de cuantificación	0,098 mg kg ⁻¹ (4,9 µg L ⁻¹)
Precisión (RSD %, n=6)	10 %
Veracidad (% de recuperación comparado con el valor certificado de los materiales de referencia certificados)	76-93 %

Tabla 2: Porcentajes de retención de selenio luego de las cocciones

Corte	Poco cocido (pérdida de peso entre 8 y 12 %)	Muy cocido (pérdida de peso entre 20 y 33 %)
Asado	101 ± 8	104 ± 8
Cuadril	91 ± 7	83 ± 7
Bola de lomo	86 ± 7	90 ± 7

Existen guías que reportan valores de ingestas dietéticas de referencia (IDR), estas guías contienen tablas con los niveles de ingesta recomendada de los oligoelementos, entre otras informaciones relevantes para la nutrición. El valor de IDR es el nivel promedio diario de ingesta suficiente por medio de la dieta para satisfacer los requerimientos de nutrientes de casi todas las personas sanas (97-98 %) en un grupo. En la **Tabla 4** se pueden observar los resultados obtenidos en este estudio. Para niños de 4 a 8 años el aporte es importante y para adultos la carne puede considerarse una buena fuente de selenio. Se debe tener presente también que en Uruguay el consumo de carne por parte de un adulto puede superar fácilmente los 100g con una alta frecuencia semanal.

CONCLUSIONES: Se desarrolló y validó un método analítico simple y económico para la determinación de selenio en muestras de carne vacuna. Con esta herramienta analítica se determinaron los niveles de este nutriente en tres cortes diferentes tanto crudos como luego de someterlos a dos puntos de cocción que podrían considerarse extremos (poco cocido y muy cocido). Se pudo concluir que la concentración de selenio en los cortes luego de la cocción no se vio significativamente afectada por lo cual el valor nutricional se mantuvo. Se confirmó que la carne vacuna es una buena fuente de selenio en la dieta.

Referencias: INAC, Principales Indicadores y determinantes del consumo de carnes-Cierre 2017 [Consulta:26 de agosto de 2019]. Disponible en: <http://www.inac.uy/innovaportal/file/16190/1/informe-consumo-de-carne-mercado-domestico-cierre-2017-vf.pdf>
Bognár, A. y Piekarski J., 2000. Guidelines for Recipe Information and Calculation of Nutrient Composition of Prepared Foods (Dishes). En: *J Food Compos Anal*, 13, pp. 391-410

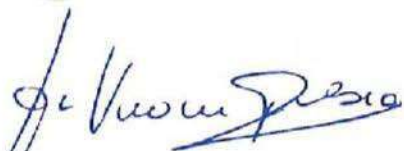
Se agradece a la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC-Proyecto Vinculación con el Sector Productivo-1608). Al Programa de Ciencias Básicas (PEDECIBA). Al Frigorífico Pando – Otilor S.A por proporcionar las muestras. Al Dr. Juan Burghi (INAC) y la Ing. Paz Xavier (INAC) por su colaboración en la obtención de las muestras. A los estudiantes Valentina Meléndez y Fabián Bermúdez.

Se certifica que el trabajo titulado
**Evaluación del contenido de hierro y zinc en cortes de carne vacuna de
consumo popular en Uruguay**

de los autores

**Suárez, Analía; Panizzolo, Luis, Méndez, Carlos;
Cerminara, Marcelo; Pistón, Mariela**

fue presentado en el 5to Congreso Uruguayo
de Química Analítica en la modalidad oral.



Prof. Ma. Verónica Cesio
por el Comité Científico
Facultad de Química - UdelaR



Prof. Isabel Dol
Presidente del Comité Organizador
Facultad de Química - UdelaR



O ALI 01

Evaluación del contenido de hierro y zinc en cortes de carne vacuna de consumo popular en Uruguay

Suárez, Analía¹; Panizzolo, Luis², Méndez, Carlos³; Cerminara, Marcelo;⁴Pistón, Mariela¹

asuarez@fq.edu.uy, mpiston@fq.edu.uy

¹ Grupo de Análisis de Elementos Traza y Desarrollo de Estrategias Simples para Preparación de Muestras (GATPREM). Área Química Analítica. Departamento Estrella Campos. Facultad de Química. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

² Área de Química de Alimentos. Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Química. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

³ Instituto Nacional de Carnes (INAC), Gerencia de Contralor, Área de Inocuidad. Rincón 545, Montevideo, Uruguay.

⁴ IMERL, Facultad de Ingeniería; DMMCC, Facultad de Ciencias Económicas. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

Los organismos vivos, necesitan de elementos inorgánicos para su supervivencia, en condiciones saludables. Entre los elementos traza esenciales u oligoelementos encontramos varios metales de transición, como el hierro (Fe) y el zinc (Zn). Según las últimas estadísticas publicadas por el Instituto Nacional de Carnes (INAC) el 85% de las exportaciones de carnes de nuestro país corresponden a carne bovina (INAC, 2016). Además, Uruguay es uno de los países que más carne consumen en el mundo, en particular destacándose la carne bovina ubicándose en el segundo puesto del ranking mundial con 59,2 kg PC / hab./año [1].

En este trabajo se realizó la determinación del contenido de Fe y Zn en muestras de tres cortes de carne bovina de consumo popular en nuestro país (asado, cuadril y bola de lomo) utilizando digestión asistida con microondas con ácido diluido como una alternativa a los métodos clásicos que utilizan ácidos concentrados para la preparación de las muestras. Se analizaron muestras provenientes de 10 animales y de cada uno los tres cortes antes mencionados. En relación a la alimentación, 5 fueron terminados con concentrado y 5 terminados con pasturas.

Las muestras fueron recibidas envasadas al vacío y posteriormente se trituraron con molino de cuchillas (aproximadamente 100 g de cada corte) y se conservaron en freezer (-18°C) hasta el momento del análisis. El tratamiento de las muestras se realizó de la siguiente manera: a 0,5 g de carne se le agregaron 10 mL de HNO₃ 4,2 mol L⁻¹ y posterior digestión con un programa según: potencia 400-1800 W; rampa de 15 minutos hasta alcanzar los 200 °C y mantenimiento a 200 °C durante 15 minutos. Una vez finalizada la digestión se realizaron las diluciones adecuadas con agua ultrapura. Los tratamientos de muestras asistidos con microondas son reconocidos como un tratamiento de comprobada eficiencia para muestras completas, además el uso de ácido diluido ha sido utilizado con excelentes resultados en algunas matrices complejas [2].

Las determinaciones analíticas de Fe y Zn se realizaron mediante espectrometría de absorción atómica de llama. Ambos elementos se encuentran en la matriz en concentraciones varios órdenes superiores a los límites de detección de esta técnica por lo cual los parámetros de desempeño evaluados fueron linealidad, precisión y veracidad. Se obtuvo un rango lineal hasta 2 mg L⁻¹ para Fe y hasta 1 mg L⁻¹ para Zn, la precisión para ambos elementos fue mejor que 10% y la veracidad fue determinada utilizando un material de referencia certificado de músculo bovino (ERM-BB184) obteniéndose recuperaciones entre 80-105% para ambos elementos. Estos parámetros se consideran adecuados para evaluar valor nutricional en alimentos de forma confiable.

Los resultados de las muestras analizadas muestran que los niveles de Fe y Zn fueron significativamente mayores en los animales cuya alimentación fue terminada en pasturas. Además, para las muestras analizadas, se sugiere un mayor valor nutricional para el corte de bola de lomo en relación a los otros dos. Es también interesante mencionar que para todos los animales el contenido de Zn es significativamente menor en el corte de cuadril. Un resumen gráfico de los resultados obtenidos se muestra en la Figura 1.



O ALI 04

Desarrollo de un método analítico para la determinación de cobre y zinc en carne bovina con preparación de las muestras en medio alcalino

laquinta, Fiorella; Tissot, Florencia; Suárez, Analía; Machado, Ignacio; Pistón, Mariela

Grupo de Análisis de Elementos Traza y Desarrollo de Estrategias Simples para Preparación de Muestras (GATPREM). Área Química Analítica. Departamento Estrella Campos. Facultad de Química. Universidad de la República. Montevideo.
fiaquinta@fq.edu.uy

La carne constituye una importante fuente de proteínas, vitaminas, minerales y oligoelementos, (como por ejemplo zinc (Zn) y cobre (Cu), entre otros) para la alimentación [1].

Los métodos analíticos clásicos para la determinación de estos metales en tejidos animales consisten en mineralizaciones, ya sea utilizando ácidos concentrados en caliente o mediante calcinación. Ambos procesos conllevan varias horas de trabajo y son poco amigables con el ambiente.

Se propone entonces un método alternativo a los antes mencionados, bajo la hipótesis de que la utilización de un reconocido agente “solubilizador de tejidos” como el hidróxido de tetrametilamonio (TMAH), será eficiente para la extracción cuantitativa de estos elementos traza de la matriz. El uso de este reactivo en digestiones alcalinas ha mostrado resultados óptimos en tratamientos de muestras aplicados a tejidos animales en diversas condiciones [2].

El método se optimizó mediante un diseño experimental multivariado de tipo central compuesto con 2 variables a 5 niveles, utilizando un material de referencia certificado de músculo bovino (ERM-BB184). Las variables estudiadas fueron: concentración de TMAH y la temperatura de extracción. Una vez obtenidos los parámetros óptimos, se procedió a la validación analítica. El procedimiento validado consistió en pesar 0,25 g de muestra (previamente seca) en un tubo de vidrio y el agregado de 5,00 mL de agua ultrapura y 1,50 mL de TMAH 25% (m/v) en metanol. La suspensión se homogeneizó con vórtex durante 30 segundos y se colocó durante 60 minutos en baño de agua a 85°C. Posteriormente se llevó a 10,00 mL con agua ultrapura y se centrifugó durante 30 min a 3500 rpm. Finalmente se filtró por membrana de 0,45 μm y se realizaron las determinaciones en el líquido filtrado mediante espectrometría de absorción atómica de llama. Los parámetros de desempeño de este método fueron: límite de detección 0,53 mg kg^{-1} para Cu y 0,63 mg kg^{-1} para Zn, precisión del 4 % expresada como RSD ($n=6$) para ambos analitos. La veracidad del procedimiento se evaluó mediante comparación de los resultados obtenidos mediante el método propuesto y realizando digestión asistida con microondas (digestión total) como método de referencia. Los resultados obtenidos por ambos métodos resultaron ser equivalentes mediante evaluación estadística, para ambos elementos y en los dos cortes.

Se analizaron, aplicando este método, seis muestras de asado y seis de cuadril (cortes populares en nuestro país) provenientes de seis animales criados en el departamento de Soriano. Las mismas se secaron a 105 °C durante 15 hs y se homogeneizaron con molino de cuchillas. Los resultados obtenidos estuvieron entre 1,39 y 3,59 mg kg^{-1} de Cu y entre 96,10 y 156,12 mg kg^{-1} de Zn (en base seca). Estos resultados estuvieron en acuerdo con los reportados previamente en carne bovina de Uruguay [3].

El método propuesto resultó adecuado para los fines propuestos siendo además muy simple y utilizando por cada ensayo apenas 1,50 mL de TMAH. Se puede considerar como una alternativa que está en mayor acuerdo con los principios de la Química Verde que los métodos clásicos de análisis.

Agradecimientos: Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC), Instituto Nacional de Carnes (INAC), PEDECIBA-Química, Comisión Académica de Posgrado (CAP) por el apoyo de beca de posgrado.

[1] C. Alfaia, A. Lopes, J. Prates. Cooking and Diet Quality: A Focus on Meat. En: Diet Quality, Springer, (2013) 257-284.



O ALI 05

Optimización de un método espectrofotométrico clásico para la determinación de hierro hemo en carne vacuna

Bühl, Valery¹; Suárez, Analía¹; Panizzolo, Luis²; Méndez, Carlos³; Cerminara, Marcelo⁴; Pistón, Mariela¹

vbuhl@fq.edu.uy

¹ Grupo de Análisis de Elementos Traza y Desarrollo de Estrategias Simples para Preparación de Muestras (GATPREM). Área Química Analítica. Departamento Estrella Campos. Facultad de Química. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

² Área de Química de Alimentos. Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Química. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

³ Instituto Nacional de Carnes (INAC), Gerencia de Contralor, Área de Inocuidad. Rincón 545, Montevideo, Uruguay.

⁴ IMERL, Facultad de Ingeniería; DMMCC, Facultad de Ciencias Económicas. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

El hierro (Fe) es un micronutriente esencial para mantener una buena salud ya que interviene en la síntesis de hemoglobina, mioglobina y ciertas enzimas. Los seres humanos obtenemos los requerimientos necesarios de este elemento por medio de la dieta. El Fe está presente en los alimentos en dos formas químicas diferentes: hemo y no hemo. Las carnes rojas, las carnes de ave y de los peces contienen hierro hemo (33 % aproximadamente) y no hemo (66%). La cantidad de Fe absorbida depende de la forma química (hemo o no hemo) siendo la correspondiente a la forma hemo mayor (20-30 %) con respecto a la no hemo (1 – 20 %). Diversos estudios han demostrado que cocinar, congelar, congelar-descongelar y almacenar carnes, disminuye el contenido de hierro hemo y aumenta el no hemo. En nuestro país, no existen estudios al respecto aplicado a nuestras carnes. El objetivo de este trabajo fue optimizar un método para la determinación de hierro hemo y luego aplicarlo para la determinación en carnes crudas y cocidas en diferentes puntos de cocción.

Se tomó como base el método de Hornsey (1956), que realiza la determinación mediante espectrometría de absorción molecular en el visible. Este método consiste en picar finamente 10 g de carne, agitar y dejar macerar en la oscuridad a temperatura ambiente durante 60 minutos, con 50 mL de acetona acidificada (90% acetona, 8% de agua destilada y 2% HCl), se filtra y se mide la absorbancia en una celda de 1,00 cm a 640 nm, en estas condiciones multiplicando por un factor de 680 se obtiene la concentración total de pigmentos en la carne como mg L⁻¹ de hematina. Para obtener el contenido de hierro hemo (mg kg⁻¹) se divide entre la masa pesada y se multiplica por 0.0882 [1]. Este método es ampliamente utilizado, sin embargo en la descripción original y en la literatura no se describen detalles sobre la influencia de la agitación ni el tiempo de incubación, por lo que aparecen numerosos trabajos que mencionan realizar la determinación de hierro hemo según el “método Hornsey” pero con diferentes estrategias de agitación y tiempos de incubación diversos.

Debido a que la matriz carne es muy heterogénea dependiendo del tipo de corte, los métodos analíticos deben ser optimizados de forma tal de obtener resultados confiables considerando diferentes variables. Para ello se recurre a diseños experimentales multivariados de forma de obtener los mejores resultados en términos de parámetros de desempeño de los métodos con el menor número de experimentos.

El método de Hornsey es válido si se mantiene la proporción de carne y disolvente, por lo tanto, en este caso se utilizaron 2 g de muestra y 9 mL de acetona ácida. Se realizó un diseño experimental multivariado de tipo central compuesto (2 variables, 5 niveles) para la optimización de las dos variables que en la literatura no han sido evaluadas: el tiempo de agitación y el tiempo de incubación en la oscuridad. Para la agitación se utilizó un agitador orbital (Daihan Sho-2D) a 200 rpm y para las determinaciones analíticas se utilizó un espectrofotómetro UV-Vis Hewlett Packard 8453.

En la tabla 1 se muestran los experimentos realizados y las respuestas obtenidas y en la figura 1 se muestra la superficie de respuesta generada a partir de los experimentos realizados utilizando el software *Statistica*® a partir de esta representación se pueden predecir las condiciones óptimas para las variables estudiadas.