

**CONTENIDO DE MINERALES TRAZA,  
BIOACCESIBILIDAD *in vitro* Y  
CONTAMINANTES EN LA CARNE DE  
NOVILLOS ABERDEEN ANGUS  
ALIMENTADOS A PASTURA VERSUS  
FEEDLOT**

Angela Felice

Maestría en Ciencias Nutricionales

Diciembre 2018

Tesis aprobada por el tribunal integrado Dra. María Salhi, Dra. Laura Astigarraga y Dra. Alejandra Terevinto, el día 21 de diciembre de 2018. Autor/a: (título nombre). Director/a (título nombre), Co-director/a (título nombre). Zootecnista Angela Cristina Felice Cardozo. Director/a Ing. Agr. Dra. María Cristina Cabrera.

Dedico este trabajo a mi hija, Sofía.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres y a mi hermano, que siempre me apoyaron y estuvieron a mi lado en todos momentos de mi vida.

A mi esposo Carlos, por su incentivo, ayuda y amor.

A mi tutora Cristina Cabrera por su amistad, paciencia y ayuda en la construcción de este trabajo.

A mis compañeras y amigas Alejandra, Marta y Carmen, por su apoyo, los consejos (y los mates) en el Laboratorio de Calidad de Alimentos y Productos.

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por el incentivo financiero para desarrollar mi proyecto.

## TABLA DE CONTENIDO

	página
PÁGINA DE APROBACIÓN .....	II
AGRADECIMIENTOS.....	IV
RESUMEN .....	VII
SUMMARY .....	VIII
<b>1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. LA CARNE COMO ALIMENTO .....</b>	<b>5</b>
<b>1.2. CALIDAD NUTRICIONAL E INOCUIDAD .....</b>	<b>6</b>
<b>1.3. MINERALES EN CARNE .....</b>	<b>8</b>
<b>1.3.1. <u>Minerales esenciales para la nutrición humana</u> .....</b>	<b>9</b>
1.3.1.1. Hierro (Fe) .....	10
1.3.1.2. Cobre (Cu) .....	12
1.3.1.3. Zinc (Zn) .....	12
<b>1.3.2. <u>Minerales contaminantes</u> .....</b>	<b>14</b>
1.3.2.1. Cadmio (Cd) .....	15
1.3.2.2. Plomo (Pb).....	16
1.3.2.3. Mercurio (Hg) .....	17
<b>1.4. BIOACCESIBILIDAD DE LOS MINERALES .....</b>	<b>19</b>
<b>1.5. OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
1.5.1. <u>Objetivos generales</u> .....	19
1.5.2. <u>Objetivos específicos</u> .....	20
<b>2. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....</b>	<b>21</b>
2.1. ANIMALES Y DIETAS .....	21
2.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS .....	21
2.3. DETERMINACIÓN DE HIERRO, COBRE Y ZINC .....	22
2.4. DETERMINACIÓN DE HIERRO heme .....	22
2.5. DETERMINACIÓN DE HIERRO no heme .....	23
2.6. DETERMINACIÓN DE BIOACCESIBILIDAD in vitro .....	23
2.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	25

<b>3. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u></b> .....	26
<b>3.1. CONTENIDO DE HIERRO (Fe)</b> .....	26
<b>3.2. CONTENIDO DE COBRE (Cu)</b> .....	28
<b>3.3. CONTENIDO DE ZINC (Zn)</b> .....	30
<b>3.4. CONTENIDO DE HIERRO HEMÍNICO (Fe heme)</b> .....	32
<b>3.5. CONTENIDO DE HIERRO NO HEMÍNICO</b> .....	34
<b>3.6. BIOACCESIBILIDAD DEL HIERRO</b> .....	36
<b>3.7. BIOACCESIBILIDAD DEL COBRE</b> .....	38
<b>3.8. BIOACCESIBILIDAD DEL ZINC</b> .....	40
<b>3.9. CONTENIDO DE METALES CONTAMINANTES Hg, Cd Y Pb ..</b>	42
<b>4. <u>CONCLUSIONES</u></b> .....	44
<b>5. <u>BIBLIOGRAFÍA</u></b> .....	45

## RESUMEN

En este trabajo se estudió el contenido de minerales traza y su bioaccesibilidad *in vitro*, la dinámica del hierro hemínico/no hemínico y la presencia de metales contaminantes, en la carne de novillos Aberdeen Angus, proveniente de dos sistemas de producción prevalentes en el Uruguay, pastoril a cielo abierto y feedlot, con una alimentación a base de concentrado y encierro (cuota 481) y su variación con el proceso de maduración. Se cuantificó el contenido de Fe total, hierro hemínico y hierro no hemínico en los músculos *Longissimus dorsi* y *Psoas major*, frescos y madurados a 14 y 30 días *post mortem*. Se determinó la bioaccesibilidad *in vitro*, a través de un protocolo de digestión y absorción simulada del Fe, Zn y Cu, en ambos músculos frescos y madurados a 14 y 30 días *post mortem*. Se cuantificó el contenido de metales contaminantes Cd, Pb y Hg en la carne de ambos músculos al estado fresco. No hubo un efecto marcado de la dieta para el contenido de Fe, Fe *heme*, Fe *no heme*, Cu y Zn, cuando se consideraron todos los factores (dieta, músculo y maduración). Sí aparece un efecto músculo muy marcado para PM el cual contiene más Fe y Fe *heme* y menos Fe *no heme*, mientras que el LD contiene menos Fe total y Fe *heme* y más Fe *no heme*. En cuanto a los diferentes tiempos de maduración, se detectó un efecto marcado de la maduración, siendo lo más destacable que la maduración disminuye el Fe *heme* en carne de pastura y no en carne de feedlot. La maduración aumenta el nivel de Cu y baja el nivel de Zn, principalmente en LD. Los valores de bioaccesibilidad de Fe, Cu y Zn se presentaron distintos entre los diferentes músculos y tiempos de maduración, no habiendo efecto significativo de la dieta, excepto cuando se consideró cada músculo por separado. Se encontraron muy bajos niveles de metales contaminantes, tanto en carne de pastura como de feedlot, pero serían necesarios más estudios para poder concluir.

**Palabras clave:** minerales traza, bioaccesibilidad *in vitro*, metales, carne bovina, pastura, feedlot.

# TRACE MINERALS CONTENT, *in vitro* BIOACCESSIBILITY AND CONTAMINANTS IN THE MEAT OF PASTURE-FEED ABERDEEN ANGUS HEIFERS VERSUS FEEDLOT

## SUMMARY

In this work, the content of trace minerals and their bioaccessibility *in vitro*, the dynamics of heme / non-heme iron and the presence of contaminating metals were studied in the meat of Aberdeen Angus steers, from two prevalent production systems in Uruguay. open-air pastoral and feedlot, with a feed based on concentrate and confinement (quota 481) and its variation with the maturation process. The content of total Fe, heme iron and non-heme iron was quantified in the Longissimus dorsi and Psoas major muscles, fresh and matured at 14 and 30 days post mortem. *In vitro* bioaccessibility was determined, through a simulated Fe, Zn and Cu absorption and digestion protocol, in both fresh and matured muscles at 14 and 30 days post mortem. The content of contaminating metals Cd, Pb and Hg in the meat of both muscles was quantified in the fresh state. There was no marked effect of diet for Fe, Fe heme, Fe non-heme, Cu, and Zn content, when all factors (diet, muscle, and maturation) were considered. A very marked muscle effect does appear for PM, which contains more Fe and Fe heme and less Fe non-heme, while LD contains less total Fe and Fe heme and more Fe non-heme. Regarding the different maturation times, a marked effect of maturation was detected, the most remarkable thing being that maturation decreases Fe heme in pasture meat and not in feedlot meat. Ripening increases the level of Cu and lowers the level of Zn, mainly in LD. The bioaccessibility values of Fe, Cu and Zn were different between the different muscles and maturation times, with no significant effect of the diet, except when each muscle was considered separately. Very low levels of contaminating metals were found, both in pasture and feedlot meat, but more studies would be necessary to conclude.

**Keywords:** trace minerals, *in vitro* bioaccessibility, metals, beef, pasture, feedlot.

## 1. INTRODUCCIÓN

El Uruguay posee un potencial productivo de carne bovina de calidad, por sus condiciones climáticas óptimas para ello, clima templado bien definido, precipitaciones regulares, topografía suave con presencia de suelos muy fértiles y una importante hidrografía. Además, cuenta con un rodeo de razas británicas predominantes y un consolidado sistema de trazabilidad individual de los animales que permite un seguimiento de cada corte hasta su empaque final (Mateo et al., 2004).

La superficie dedicada a la ganadería bovina y ovina totaliza 13,4 millones de hectáreas, lo que representa el 81,9% del área agropecuaria total del país, según datos del último censo agropecuario del año 2011. (DIEA-MGAP, 2015). Actualmente, el país cuenta con un stock de vacunos de 12 millones de cabezas y 6,6 millones de ovinos. (DIEA-MGAP, 2017)

El volumen total de exportaciones de carne bovina es de aproximadamente 455.679 toneladas de peso carcasa entre julio de 2017 y junio de 2018 (aproximadamente 84% de la producción total) que se destinan a mercados altamente exigentes en calidad de carne vacuna, como Europa, Estados Unidos, Canadá, Brasil, Israel y países de Asia y África (INAC, 2018; Miller, 2006). El consumo interno de carne bovina alcanza un promedio de 57,8 kilos y 3,3 kilos de carne ovina per cápita, según datos del DIEA-MGAP (2017). Este consumo se basa fundamentalmente en la disponibilidad, precio y costumbres de la población. Producir carne es muy complejo pues depende no solo de la demanda, que a su vez suele basarse en el precio e ingresos, como también de influencias socioeconómicas relevantes (Bender, 1992).

La producción de bovinos de carne se desarrolla en conjunto con ovinos lanares en pastoreo mixto. Con respecto a la orientación productiva, se distinguen tres tipos de establecimientos: los criadores, los invernadores y los de ciclo completo, siendo que en el primer caso los productos son vacas de descarte y terneros para destete, en el segundo caso se compran animales para recría y engorde direccionados a la

terminación para venta a la industria frigorífica; los productores que hacen ciclo completo se ocupan de todas las fases productivas de los animales (MGAP, 2003).

La forma como se lleva a cabo la producción de carne en nuestro país contempla criterios de cuidados ambientales y bienestar animal, con el uso adecuado de los recursos naturales (INAC, 2015). Las principales razas que se encuentran en los establecimientos ganaderos son más del 90% de origen británica como Hereford y Aberdeen Angus, siendo el Hereford la raza con mayor presencia en campos uruguayos, pese a su tendencia decreciente en los últimos años; pasó de un 58% al 45%. Por otro lado, la raza Aberdeen Angus es la segunda más importante, con un 33% y en tendencia creciente (Miller, 2006; Angus y Hereford Uruguay, 2017).

La raza Angus, esencialmente carnicera, presenta cortes que se destacan por características organolépticas bien definidas tales como el marbling que le confiere la terneza, considerada superiores en comparación con otras razas. La suma de los atributos de calidad del ganado Angus ha llevado al reconocimiento mundial de esta raza, y en este sentido el Uruguay, tiene oportunidades para exportar un producto de interés en el mercado mundial (Angus Uruguay).

La inserción de la carne uruguaya en el mercado está íntimamente relacionada con el concepto de calidad que engloba una amplia gama de atributos esenciales para lograrla. Frente a un mercado cada vez más exigente, Uruguay considera como una estrategia de inserción comercial la valorización del sistema de producción, pastoril, al aire libre y libre de hormonas y posiciona a la cadena cárnica uruguaya con oportunidades para su exportación a mercados cuyas demandas de los consumidores son exigentes hacia esos atributos. Sin embargo, coexisten dos o más sistemas de producción principales, desde el sistema pastoril hasta el sistema intensivo, con encierro en la fase de engorde y concentrado. La producción de carne en sistema pastoril, utiliza más de 90% de la superficie de campo natural como base forrajera, que puede ser complementado con áreas mejoradas por medio de la introducción de leguminosas y/o praderas artificiales, conforme lo que permiten los recursos naturales disponibles y para la terminación, se pueden utilizar praderas y verdeos o simplemente campo natural (MGAP, 2003).

En la terminación de novillos con concentrado, se cuenta con sistemas de producción intensivos y muy intensivos, que implican el encierro durante un periodo de 90 o 120 días (Simeone y Beretta, 2000). Este sistema de producción con determinados ajustes en los últimos años, es parte del protocolo exigido por el reglamento n°481/2012 de la Comisión Europea, que exige la permanencia de los animales en corrales de engorde durante los 100 días previos a la faena alimentados con dieta concentrada, con un consumo de MS del 1,4% del peso vivo conteniendo un 62% de materia seca y 12,26 MJ/kg MS.

Varios factores como la raza del animal, el sexo, la edad, la posición geográfica, la dieta ofrecida a los animales y el manejo pre y post faena ejercen gran influencia en la composición química de la carne, así como en sus características sensoriales (Depertis y Santini, 2005). La predominancia del sistema pastoril imprime a la carne bovina ciertas características ya estudiadas de interés para el consumidor. Las diferencias que ocurren entre los sistemas de alimentación se atribuyen en parte a la composición lipídica de las pasturas, con mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados (Realini et al., 2004).

Por otro lado, según Descalzo et al.,(2005) la carne producida en sistemas pastoriles de Argentina tiene un nivel mayor de antioxidantes naturales y un contenido importante de ácidos grasos del tipo omega 3, compuestos que juegan un rol fundamental en el sistema inmunológico, en la capacidad cognitiva, entre otras funciones del organismo. Además, la carne de animales a pastoreo tiene bajos niveles de grasa intramuscular (Realini et al., 2004; Terevinto, 2010; Saadoun et al., 2014).

Considerando el conjunto de atributos de calidad nutricional como los descritos en el review de Cabrera y Saadoun (2014) y, en relación con la dieta humana, la carne tiene componentes esenciales para la salud y la nutrición humana, como los elementos minerales, y particularmente el hierro hemínico. La cantidad de nutrientes biodisponibles, y funcionales, permite la prevención de enfermedades y mantenimiento de la capacidad cognitiva y desarrollo del ser humano activo (Saadoun y Cabrera, 2012). En este aspecto, la presencia de nutrientes como los minerales en la carne roja es muy relevante, por ser la mayor fuente y porque juegan

un importante rol en varias funciones del organismo, actuando tanto en su forma iónica como constituyente de compuestos tales como enzimas, hormonas, secreciones y proteínas tisulares. (Gonçalves et al., 2007).

En la carne bovina se encuentran principalmente el hierro (Fe), zinc (Zn), selenio (Se), cobre (Cu), fósforo (P), potasio (K), sodio (Na) y magnesio (Mg), con mayor presencia en los músculos más oxidativos. La carne roja se presenta como la principal fuente de hierro hemínico, siendo entre 40 y 60% de este elemento altamente absorbible (Ramos et al., 2012).

Las características nutricionales de la carne producida a pasto tienen particularidades en cuanto a la composición mineral (Cabrera et al., 2010) así como en la bioaccesibilidad *in vitro* de estos minerales (Ramos et al., 2012). Es particularmente interesante el contenido de hierro de la carne producida a pasto, aunque se ha demostrado, por el equipo de investigación que lidera esta temática en el país, que también, la raza, el tipo de músculo y el tiempo de maduración afectan estos contenidos (Cabrera et al., 2010; Ramos et al., 2012; Cabrera y Saadoun, 2014).

Recientemente, se obtuvieron datos de que el sistema de producción de bovinos de carne puede afectar el contenido de hierro de los músculos comercialmente valiosos (Saadoun et al., 2011; Pereiro et al., 2013; Cabrera et al., 2013).

En este sentido, nuestro trabajo de tesis de maestría fue abordar el estudio del contenido de los elementos minerales traza, Fe, Zn y Cu, y Hierro hemínico, de la carne bovina proveniente de dos sistemas de producción y alimentación, pastoril y a base de concentrado. El estudio incluyó además, la bioaccesibilidad *in vitro*, simulando un sistema digestivo adulto. Para ello, se evaluaron dos músculos, el *Longissimus dorsi* (LD) y *Psoas major* (PM) en estado fresco y madurado por 14 y 30 días.

Se espera encontrar diferencias en contenido y bioaccesibilidad de minerales esenciales en la carne de animales provenientes de diferentes sistemas de alimentación, considerando los antecedentes de estudios realizados en otras razas en el país y a nivel internacional.

Se esperan encontrar un efecto significativo del proceso de maduración en los niveles de minerales, debido a la importancia que tiene el mismo en la industrialización de la carne.

Además, se espera que los niveles de metales pesados sean más bajos que los tolerables, para mantener una carne de alta calidad.

Para una mejor comprensión de la temática, abordaremos una revisión de los principales aspectos en relación con la valorización de la carne y su interés para la nutrición humana, así como el rol de los minerales traza en la nutrición humana y su aporte desde la carne bovina.

## **1.1. LA CARNE COMO ALIMENTO**

En las últimas décadas se ha observado un mayor interés hacia aspectos de la vida humana e incluso animal relacionados con la alimentación. Se evidencian relaciones entre nutrientes, su deficiencia y la existencia de patologías de gran impacto socioeconómico que tienen influencia sobre la calidad de vida y bienestar del ser humano. Por otro lado, surge el interés de ciertos compuestos con acciones benéficas y necesarios para la vida (Cabrera, 2003).

Los alimentos deben ser consumidos como promotores de la salud y del bienestar, para modular las funciones del organismo que sean relevantes a la salud, y como factores de prevención de enfermedades crónico-degenerativas, como cáncer, obesidad, hipertensión y enfermedades cardiovasculares (ECV). Alimentos que presentan funciones nutricionales, metabólicas y terapéuticas y tienen uso potencial en la prevención y control de enfermedades, son denominados “funcionales”. Además de las características nutricionales adecuadas, los alimentos deben exhibir aspectos de calidad y sanidad, que no generen riesgos para la salud de los consumidores (Feijó et al., 2009).

Estos alimentos son los que contienen uno o más componentes que afectan positivamente determinadas funciones del organismo. Dichos componentes pueden ser macronutrientes, micronutrientes o compuestos sin valor nutritivo (como los

flavonoides), pero siempre son componentes naturales de los alimentos, no elaborados o añadidos por fortificación (Ros, 2001).

Según Hernández (2002), la carne aporta en la dieta humana proteínas altamente digestibles y que son fundamentales para el ser humano, principalmente en etapas críticas tales como embarazo y lactancia, infancia y fase juvenil, pues contribuye con el desarrollo físico y mental. Además, aporta vitaminas del complejo B (tiamina o B1, riboflavina o B2, piridoxina o B6, cobalamina o B12, niacina, biotina, ácido fólico, ácido pantoténico) y vitamina A, así como minerales biodisponibles tales como hierro, zinc, selenio, potasio, manganeso, fósforo, sodio, y cobre. Aporta proteínas de alto valor biológico y de lípidos de interés nutricional. (Gonçalves et al., 2007), que en algunos casos son elevados (Se y Fe heme) siendo considerado esto un atributo nutricional y funcional valioso (Cabrera y Saadoun, 2014).

Debido a la importancia de los minerales en la carne, en este trabajo se realizará una breve reseña de la importancia de los minerales esenciales y de los metales pesados en la salud humana y de los antecedentes a nivel nacional.

## **1.2. CALIDAD NUTRICIONAL E INOCUIDAD**

La calidad de la carne, y en particular, la calidad nutricional de la carne con relación a la dieta humana es un atributo moderno de la carne roja que permite valorizarla en los mercados consumidores y que, por lo tanto, el conocimiento de contenidos de nutrientes y sus variaciones nos permite calificar y valorizar la carne de una región o un país (Saadoun y Cabrera, 2012). En este sentido, en este trabajo de tesis, y considerando los estudios anteriores llevados a cabo en Uruguay (Cabrera et al., 2010; Ramos et al., 2012; Cabrera y Saadoun, 2014) se continuará con el estudio de contenidos de minerales de alto impacto en la salud, incorporando diferentes sistemas de alimentación de los que prevalecen en el país, varios músculos, de alto y medio valor comercial y el proceso de maduración.

Puede observarse que la mayoría de los aspectos de calidad están relacionados directa o indirectamente con aspectos intrínsecos de los animales, factores productivos o medioambientales y procedimientos industriales de elaboración y

comercialización. En el rol de las principales características de la calidad de la carne, los cambios bioquímicos musculares que ocurren post-faena son fundamentales. Por lo tanto, los procedimientos de elaboración deberían estar diseñados de manera a optimizar la calidad comestible y nutritiva final (Teira et al., 2006).

En este contexto, la maduración de la carne tiene un papel fundamental y se desarrolla por medio de un proceso dependiente de enzimas proteolíticas endógenas, las catepsinas y las calpaínas que actúan sobre proteínas específicas para que la carne sea más tierna y sabrosa, cualidades que aumentan la aceptabilidad del producto. Este proceso también depende de la temperatura y puede ser acelerado aumentando la temperatura, pero, por motivos de inocuidad se aconseja que la carne madure a una temperatura entre 1 y 2°C y humedad relativa entre 85 y 95%. En estas condiciones, la carne de res madura en 14 días. Además de las características organolépticas, la maduración puede resultar en una variación del contenido de nutrientes, especialmente minerales, una vez que implica cambios enzimáticos y movimientos de agua (Abdo, 2011; Ramos et al., 2012).

Además de la calidad nutricional, la inocuidad es un atributo de calidad que permite calificar un sistema productivo como inocuo, cuando no incorpora elementos nocivos en el alimento, en este caso la carne. No hay antecedentes en el país de estudios de contenidos de metales en carne y en esta tesis se pretende abordar esta temática como un aporte a la trazabilidad y seguridad nutricional de la carne uruguaya. En base a esto, la idea principal es que a través de un atributo nutricional pueda asociarse el sistema de producción con contenidos y bioaccesibilidad del mismo en un enfoque original que beneficie la exportación de estas carnes a los mercados con demandas de valor funcional.

En esta tesis se abordarán aquellos metales para los cuales podría haber riesgo de incorporación en la carne como resultado de la utilización creciente de fertilizantes fosfatados en las pasturas mejoradas o en los fosfatos usados como suplemento mineral (Cabrera et al., 2011), como el Cd y Pb en la carne de novillos provenientes de un sistema pastoril o a base de concentrado (tipo feedlot).

### **1.3. MINERALES EN CARNE**

Los minerales contribuyen a la formación del esqueleto (Ca, P, Fe, Mg), otros constituyen compuestos importantes para el organismo (Fe, Ca, P, Cu, I), también son necesarios en el mantenimiento del equilibrio osmótico de las células (Na, K, P) y en el transporte de sustancias a través de la membrana celular (Na). Se pueden dividir en macrominerales (Ca, P, F, Na, K y Mg) cuando son requeridos en grandes cantidades y microminerales (Mn, Co, I, Zn, Fe, Cu, Mo, Se) cuando son necesarios en cantidades menores (Gava, 1978).

Los minerales traza son muy importantes para la alimentación humana. Esto se relaciona con la esencialidad de cada elemento y con lo que implica moderadas carencias en la dieta de las personas en diferentes rangos de edad. Por ejemplo, el zinc, el hierro, el selenio y el cobre son necesarios en la prevención de deficiencias nutricionales, en la defensa inmune a nivel tanto celular como humoral, en el proceso de regulación de la expresión génica en la fase de respuesta aguda, en las defensas antioxidantes y está involucrada en la prevención de enfermedades crónicas (Cabrera et al., 2010).

Ramos et al. (2012) destaca que del total de minerales que contiene la carne apenas una parte está biodisponible para la absorción intestinal en humanos. Los estudios acerca de la biodisponibilidad y bioaccesibilidad en la carne cruda son escasos, por eso es de gran importancia que se mida el porcentaje de elementos presentes en la carne de res que estén efectivamente disponibles para la absorción por parte del ser humano. Este tipo de información es esencial para determinar la eficiencia nutricional de la carne en el mantenimiento de la salud humana.

La composición mineral de la carne varía en función de varios factores, como el tipo de músculo, la raza del animal, la alimentación y el procesamiento de la carne (Cabrera y Saadoun, 2014 y Ramos et al., 2012). Por ejemplo, en un estudio realizado con cinco músculos seleccionados de novillos Aberdeen Angus, se observó una variación significativa en el contenido de K, Fe y Zn considerando la edad, el tipo de músculo y el sistema de alimentación de los animales, mientras que los niveles de

Ca, Na y Mg no se vieron afectados por estos parámetros (Zarkadas, 1987). Comparando diferentes sistemas de alimentación de bovinos, Roldán (2008) observa que la carne producida a pasto posee un mayor contenido de agua que es lo que facilita el transporte intracelular de elementos traza y favorece la síntesis y disponibilidad de estos elementos en el organismo humano. Por otro lado, en la carne producida en feedlot, el mayor nivel de alimentación a que se someten los animales afecta la composición química del músculo que en general presenta una mayor deposición de tejido graso y menor contenido de agua en el músculo (Daley et al., 2010)

### **1.3.1. Minerales esenciales para la nutrición humana**

La carne es el alimento que más contribuye con el aporte nutricional de la mayoría de los minerales esenciales para la dieta humana. Gran parte de los minerales biogénicos se encuentran más accesibles para el organismo humano a partir de tejidos animales en comparación a otros alimentos. (Zarkadas, 1987)

Los minerales esenciales son aquellos los cuales su carencia implica perturbaciones específicas correspondientes al elemento faltante. Son muy importantes para el mantenimiento de las principales funciones fisiológicas y están presentes en el organismo humano en forma sólida en la estructura esquelética y dental, así como en los tejidos blandos y además, actúan como co-factores en los procesos enzimáticos y juegan un importante rol en los fluidos orgánicos, en forma de sales solubles, actuando como electrolitos en el equilibrio ácido-básico de estos fluidos (Camargo, 2008).

La incorporación de carne en la dieta está asociada a una óptima utilización del hierro no hemínico (de origen vegetal), por lo que se denomina “factor carne”, según Hurrell et al., 2006, aún en presencia de fitatos (Baech et al., 2003). Se llama “factor carne” a la fuerte influencia de la presencia de la carne de cualquier especie, incluso en cantidades relativamente pequeñas, en la absorción del hierro a partir de la totalidad de la comida. La absorción de hierro no hemínico de una comida que contenga carne es cerca de 4 veces mayor que porciones equivalentes de leche, queso o huevos (Cardero Reyes et.al., 2009). Este efecto de impacto en personas deficientes

en hierro y, además, por medio de las proteínas, promueve la absorción de zinc, lo cual convierte a la carne en un alimento de altísima calidad nutricional (Etcheverry et al., 2006; Navas-Carretero et al., 2009, Lopez de Romaña et.al., 2010) cuya sustitución por soja en alimentos de primera edad aún no es convincente (Etcheverry et al., 2006).

Sin embargo, la composición mineral de la carne puede variar. Estudios preliminares realizados por nuestro grupo muestran diferencias en el contenido mineral entre músculos de animales de la misma especie, entre razas bovinas y entre especies (Cabrera et al., 2010; Ramos et al., 2012). Las variaciones más notorias de contenido mineral se relacionan con el Fe, Zn y Cu (Zheng et al., 1993; Ramos et al., 2012). También varía el porcentaje de Fe hemínico entre las carnes de distintas especies y entre los músculos analizados (Lombardi-Boccia et.al, 2002a). Estudios recientes muestran particularidades de la carne proveniente de sistemas pastoriles (Cabrera et al., 2014) y el interés como fuente mineral orgánica para la alimentación de individuos de alta demanda nutricional.

#### **1.3.1.1. Hierro (Fe)**

El hierro es un micromineral esencial, es decir, un elemento que necesita ser consumido en pequeñas cantidades por medio de los alimentos, ya que el organismo humano tiene la capacidad de retenerlo en órganos y tejidos específicos. Este mineral constituye enzimas del grupo hemo como las hemoglobinas y citocromos que son muy importantes para el transporte de oxígeno y dióxido de carbono, y para la fosforilación oxidativa, respectivamente. Como parte de la enzima lisosomal mieloperoxidasa, el hierro es necesario para el éxito de la fagocitosis y para que la acción de los neutrófilos sobre las bacterias sea eficiente (Abdo y Cabrera, 2011).

Pereiro (2014), Barbosa (2013) y Camargo et al. (2008) destacaron las funciones del Fe como componente de la hemoglobina presente en los glóbulos rojos de la sangre en su rol de transportador de O<sub>2</sub> desde los pulmones hacia los tejidos y también como transportador intracelular de electrones por medio de los citocromos. Entre

otras funciones de las hemoproteínas en el cuerpo humano se destacan la síntesis de hormonas tiroideas y sales biliares y la detoxificación de sustancias extrañas en el hígado. En el organismo el hierro queda almacenado en proteínas como la hemosiderina y dentro del hígado y del bazo como ferritina y su transporte se lleva a cabo por la proteína transferrina. (Abdo y Cabrera, 2011; Pereiro, 2014). De acuerdo con Cabrera & Saadoun (2014) el hierro presente en la arteria umbilical es fundamental para el desarrollo del feto y está relacionado con el coeficiente intelectual de niño.

El hierro está en los alimentos tanto en su forma orgánica (hemínico) como en su forma inorgánica (ferroso y compuestos férricos). En una persona adulta, 95% del Fe necesario para la síntesis de la hemoglobina resulta de la degradación de los eritrocitos. El organismo no excreta el excedente de Fe por su cuenta, sino que lo elimina por medio de células descamadas y hemorragias (Abdo y Cabrera, 2011). La carne roja es una fuente importante de hierro en sus dos formas (Cabrera y Saadoun, 2014).

La deficiencia de hierro en el organismo humano es un problema de importancia mundial, pues afecta personas en distintas fases de su desarrollo, especialmente los niños y mujeres en edad reproductiva, especialmente embarazadas, ya que tiene gran importancia en el desarrollo del cerebro y otros tejidos. El principal síntoma de la deficiencia del hierro es la anemia, enfermedad reconocida como importante causa de déficit cognitivo en niños en fase escolar, reducción de la capacidad física de trabajo debido a la falta de hemoproteínas, que implica un incremento en la producción de ácido láctico en los músculos y resulta en la fatiga muscular. Además, la falta del hierro en el organismo está asociada a una disminución de la inmunocompetencia, problemas de crecimiento, raquitismo y malfuncionamiento del sistema enzimático antioxidante (Abdo y Cabrera, 2011; Cabrera, 2010; Pereiro, 2014).

### **1.3.1.2. Cobre (Cu)**

El cobre es un microelemento esencial para el desarrollo de varias funciones fisiológicas del organismo y es un co-factor esencial de las enzimas citocromo C-oxidasa, monoamino-oxidasa y Cu/Zn superóxido-dismutasa (Gonçalves et al., 2007; Grohnert et al., 2004; Ramos et al., 2009). El cobre también está fuertemente relacionado con el metabolismo del hierro en la transformación de la hemoglobina (Camargo et al., 2008; Gonçalves et al., 2007).

Este mineral se encuentra en todos los tejidos orgánicos en pequeñas cantidades y su absorción en el organismo humano se da en el duodeno por transporte activo y por difusión (Camargo et al., 2008; Gonçalves et al., 2007). El contenido de cobre de un adulto de 70 kg es de aproximadamente 110 mg, los cuales 10 mg corresponden al hígado, 8,8 mg al cerebro, 6 mg circulan en la sangre, 3 mg quedan en el riñón, 46 mg en el esqueleto (incluso en la médula ósea) y 26 mg están en los músculos esqueléticos (Grohnert et al., 2004).

La deficiencia severa de cobre puede llevar a anemia, leucopenia, neutropenia, hiperuricemia, retardo en el crecimiento (Gonçalves et al., 2007), desmineralización de los huesos, fragilidad de las grandes arterias, desmielinización del tejido nervioso e importantes desórdenes neurológicos (Abdo y Cabrera, 2011), como el autismo. Esta carencia puede ser resultado de reducidos depósitos de cobre al nacimiento; aportes dietarios inadecuados; aumento de los requerimientos en fases críticas como crecimiento y embarazo y pérdidas gastrointestinales aumentadas por diarreas agudas y/o crónicas (Grohnert et al., 2004).

### **1.3.1.3 Zinc (Zn)**

El zinc es un elemento traza esencial para la salud y funcionamiento del organismo humano, presente principalmente en productos de origen animal, especialmente en las carnes rojas, donde existe una mayor bioaccesibilidad que en los alimentos de origen vegetal, porque el fitato, presente en vegetales, es el mayor inhibidor de la absorción de zinc, mientras que la proteína de origen animal promueve su absorción

(Lopez de Romaña, 2010; Pereiro, 2014). Tanto la cantidad como el tipo de proteína juegan un rol muy importante en la captación del zinc en el intestino. La proteína por si sola es una buena fuente de zinc, por lo que la mayor ingesta de la proteína, mayor será la ingesta de zinc (Lopez de Romaña, 2010).

El zinc participa de una gama de procesos bioquímicos relacionados con el metabolismo humano, ya que más de 100 enzimas necesitan de este mineral para ejercer su función catalítica, entre ellas están las oxirreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas. Este mineral ejecuta en el organismo funciones catalíticas, estructurales y reguladoras. La anhidrasa carbónica, carboxipeptidasas, fosfatasa alcalina y la  $\beta$ -lactamasa son algunas enzimas en las que el rol catalítico del zinc es necesario para su función biológica. En su rol estructural el zinc estabiliza la estructura terciaria de enzimas, dándoles una forma conocida como “dedos de zinc”, las cuales se unen al ADN para la transcripción y expresión génica. Los iones de zinc intracelulares cumplen la función reguladora activando o inhibiendo ciertos factores que son responsables de regular la expresión genética (Lopez de Romaña et al., 2010).

La deficiencia de zinc altera múltiples funciones fisiológicas y metabólicas, causando hipogonadismo, trastornos en el crecimiento y perjudica el proceso de cicatrización de heridas. En los niños, la carencia de Zinc lleva a un crecimiento deficiente y alteraciones en el desarrollo. El déficit grave de este mineral aparece en personas alcohólicas, pacientes con enfermedad renal crónica o con graves deficiencias de absorción nutrimental y a veces en pacientes sometidos a nutrición parenteral total prolongada (Abdo y Cabrera, 2011).

### **1.3.2. Minerales contaminantes**

El contenido residual de metales en los alimentos, es un importante indicador directo del grado de contaminación, que puede ser resultado de varias acciones humanas y naturales (Montaña, 2009).

Las características particulares de ciertos terrenos, la contaminación de praderas y tierras de cultivo con metales pesados oriundos de la industria minera, purines y residuos, y materias primas como los fosfatos, son la principal vía de acceso de estos elementos a la cadena alimentaria, cuando son consumidos involuntariamente y acumulados en los tejidos de los animales de producción (Batán, 2001). La aplicación de sustancias biosólidas, fertilizantes, estiércol de ganado, uso de fosfatos como suplementos minerales, agroquímicos y la irrigación con aguas contaminadas también son potenciales acciones contaminantes de los alimentos tanto de origen animal como vegetal (Montaña, 2009).

Los metales pesados son elementos que se denominan *no nutricionales* y no están asociados a la fisiología normal del ser humano ni de los animales. Estos elementos se encuentran en la cadena trófica desde el campo hasta el punto de consumo final exponiendo la salud humana y animal a riesgos comprometedores (Cabrera, 2010). La detección de residuos de metales pesados en los alimentos ha logrado tener cada vez más importancia por su alta toxicidad y su capacidad de bioacumulación en el organismo humano y animal (Vidal et.al. 2007).

Debido a similitudes fisicoquímicas, muchos de estos metales comparten las mismas vías con los elementos esenciales y, sobre todo debido las interacciones con las funciones de los metales esenciales, estos contaminantes pueden causar efectos tóxicos en los seres humanos (Montaña, 2009).

Con respecto a los metales pesados, Sanz Pérez (2007) afirma que la utilización industrial de estos elementos los ha hecho tan presentes en el medio ambiente que ha despertado la preocupación de la población por el rol que juegan en la contaminación ambiental. Además de los metales resultantes de la actividad antropogénica, existen los metales que provienen de fuentes naturales (residuos geogénicos), como los

fosfatos, por ejemplo, que llegan al medio ambiente en pequeñas cantidades, siendo que la actividad industrial ha aumentado sus concentraciones.

### **1.3.2.1 . Cadmio (Cd)**

El cadmio es un metal pesado de alta toxicidad especialmente en su forma inorgánica. Las principales vías de intoxicación por este elemento son la inhalación y la ingestión. En regiones industrializadas, las aguas y suelos tienen una mayor probabilidad de contaminación y, debido a su alta transferencia agua-suelo-planta, el cadmio es un potencial contaminante de los alimentos (Larrañaga et al., 2011).

Batán (2010) afirma que el contenido de cadmio en el suelo es relativamente bajo y la absorción de este elemento por las plantas resulta relativamente pobre, por lo que, en condiciones normales de cultivo, no suele ser preocupante esta vía de entrada en la cadena trófica; pero sí se puede considerar importante la contaminación cuando se utilizan fuentes de abonos fosforados ricos en cadmio o bien residuos urbanos.

Los alimentos de origen animal como frutos del mar, pescados y vísceras de animales de feedlot son responsables por cerca de 1/3 de la contaminación por cadmio en el ser humano mientras que los alimentos vegetales son la principal vía de contaminación, siendo que 2/3 de la contaminación proviene de estos productos (Cabrera, 2010). La absorción del cadmio a través del tracto gastrointestinal es de aproximadamente 5%, pudiendo alcanzar a un 15% en personas con deficiencia de Fe (Batán, 2001) y se acumula principalmente en el hígado y en el riñón con una semivida de eliminación en estos órganos de 6 a 38 años y de 4 a 19 años respectivamente. En el plasma, la semivida de eliminación del cadmio alcanza los 10 años (Larrañaga et al., 2011). En animales, la absorción de cadmio es baja, particularmente en rumiantes, donde no pasa de 1% (Batán, 2001); la acumulación de este elemento si es muy elevada y se da en los mismos órganos que en el ser humano y tienen una vida media de 30 años (Cabrera, 2010).

La toxicidad del cadmio produce efectos muy agresivos en la salud humana que dependen de la dosis y la duración de la exposición al mismo (Larrañaga et al.,

2011). El estatus de elementos esenciales también contribuye con el efecto de cadmio facilitando su absorción intestinal, por ejemplo, en animales con baja ingesta de Zn y Se, la absorción de cadmio se vio aumentada. (Cabrera, 2010).

El cadmio actúa como disruptor endocrino, tiene la capacidad de unirse a los receptores celulares estrogénicos y mimetizar las acciones de los estrógenos (Larrañaga et al., 2011) y también puede llevar al desarrollo de cáncer de próstata y mama, según la Agencia Internacional de Investigación Sobre el Cáncer que clasificó los compuestos de cadmio como carcinogénico humano Grupo I (IARC, 1993).

#### **1.3.2.2 . Plomo (Pb)**

El plomo es un metal pesado no esencial y sus efectos tóxicos fueron descritos hace más de 100 años (Rubio et al., 2004). Posiblemente es el metal que ha creado más problemas en lo que se refiere a las vías de entrada en el organismo y al gran número de órganos y sistemas corporales que afecta (Sanz Pérez, 2007). El plomo tiene la capacidad de acumularse por lo que su concentración en las plantas y tejidos animales se magnifica a lo largo de la cadena trófica (Rubio et al., 2004).

Este metal se encuentra en todas las partes del medio ambiente como en el aire, en las plantas, en los animales, en el agua (de bebida, de los ríos, océanos y lagos), en el polvo, en el suelo, etc. (Rubio et al., 2004). Las principales fuentes de contaminación ambiental por plomo son las fábricas de baterías, el empleo de determinados insecticidas agrícolas y los fosfatos de roca (Sanz Pérez, 2007).

En el suelo, el nivel de plomo se considera relativamente bajo, así como su absorción por parte de las plantas, salvo que el suelo esté contaminado con este metal. Una de las principales fuentes de contaminación medioambiental en granjas de producción son los combustibles con plomo, lo que puede representar una vía importante de entrada a la cadena alimentaria, una vez que los animales consuman cultivos de áreas contaminadas. Otra posible fuente de contaminación son las pinturas de las instalaciones ganaderas que los animales suelen lamer o morder (Batán, 2001).

La exposición del ser humano al plomo se produce principalmente a través de la dieta. Un adulto sano que no haya sido expuesto al plomo por ninguna otra vía ingiere diariamente de 0,3 a 0,5 mg de este metal, siendo el 80% del mismo eliminado vía renal. Si la ingesta supera los 0,6 mg/día el plomo se acumula y puede llevar a una intoxicación (Rubio et al., 2004).

Los síntomas de la intoxicación por el plomo en el ser humano están relacionados principalmente con el sistema nervioso central. En los niños y fetos se pueden desarrollar disfunciones del sistema nervioso central y en adultos, puede llevar a hematotoxicidad, disfunción reproductiva (puede llevar a nacimiento prematuro e incluso abortos) y Enfermedad de Alzheimer (Rubio et al., 2004). Además, existe una correlación entre el nivel de plomo en sangre y la incidencia de hipertensión (Rubio et al., 2004)

### **1.3.2.3 . Mercurio (Hg)**

El mercurio es un elemento natural liberado en el medio ambiente por las erupciones volcánicas y también formando parte de la corteza terrestre comúnmente en forma de sales de mercurio. Este mineral también es liberado en el ambiente por acciones del hombre como la industria. Estando libre en el ambiente, el mercurio elemental se evapora y circula por el aire y se deposita nuevamente en la tierra o en el agua (Weinberg, 2007).

La principal fuente de contaminación dietaria de mercurio es el consumo de pescado y mariscos y cuánto más grandes los peces, contienen más cantidad de ese metal en el organismo (Sanz Pérez, 2007). Una vez que el mercurio entra en contacto con el medio acuático, los microorganismos pueden transformarlo en metilmercurio (CH<sub>3</sub>Hg) que es más tóxico en dosis bajas que el mercurio elemental. Este compuesto pasa a formar parte de la cadena trófica, donde se biomagnifica, concentrándose más a medida que asciende por ella (Weinberg, 2007).

La absorción del mercurio depende del sitio y de la forma química que llega al organismo. En el tracto gastrointestinal se absorbe menos del 0,01% del Mercurio

ingerido, mientras que la absorción de sus sales varía del 2% de la ingesta diaria de Cloruro de Mercurio, hasta el 20% de Acetato de Mercurio en animales experimentales. Los compuestos alquílicos, al ser liposolubles, se absorben en cantidades mucho mayores que las formas inorgánicas (Sanz Pérez, 2007). Una vez absorbido por el organismo humano, el mercurio tiene efectos potencialmente tóxicos y puede dañar gravemente la salud humana.

La toxicidad del mercurio pasa de madre a hijo durante el embarazo; los fetos, igual que los lactantes y los niños son particularmente sensibles a la intoxicación por este elemento. Los efectos que pueden pasar en la etapa fetal incluyen daño cerebral, retraso mental, ceguera, epilepsia e incapacidad de hablar. Los niños intoxicados con mercurio pueden desarrollar problemas a nivel de sistema nervioso y digestivo, además de daño renal (Weinberg, 2007).

En los adultos, el sistema nervioso central y el sistema renal son muy sensibles a todas las formas del mercurio. La contaminación por altos niveles de este metal puede dañar el cerebro y los riñones de forma irreversible. Los síntomas de la exposición al mercurio pueden ser irritabilidad, temblores, cambios en la visión o audición y problemas de memoria (Weinberg, 2007).

El compuesto de mercurio llamado metilmercurio es el principal contaminante de los alimentos. Después de ingerido, su absorción a nivel estomacal e intestinal ocurre de forma más completa que el mercurio inorgánico. Adentro del organismo, este compuesto se transporta rápidamente hasta la corriente sanguínea, por donde entra inmediatamente al cerebro y ahí se acumula y se va convirtiendo lentamente en mercurio inorgánico. La intoxicación por metilmercurio causa efectos neurológicos, enfermedad cardíaca (riesgo de ataque cardíaco y accidente vascular) e hipertensión, daños al sistema inmunológico, aumentando la susceptibilidad humana a las enfermedades autoinmunes e infecciosas. Además, este compuesto de mercurio se clasifica como cancerígeno clase C y tiene efectos negativos sobre la fertilidad tanto masculina como femenina (Weinberg, 2007).

## **1.4. BIOACCESIBILIDAD DE LOS MINERALES**

La biodisponibilidad mineral es también un atributo nutricional de la carne, ya que los minerales presentan mayor biodisponibilidad a partir de tejidos animales que a partir de otras fuentes de minerales (Sager, 2006). Ramos et al. (2012) y Pereiro et al. (2013) mostraron que la biodisponibilidad de los minerales en el músculo varía con la raza, el tipo de músculo y el sistema de producción y la maduración. La biodisponibilidad del Fe hemínico en *Pectoralis major* en aves es 42%, mientras que en músculos bovinos es mayor al 90%. A su vez el Fe hemínico es más biodisponible que el Fe no hemínico (Clark, Mahoney y Carpenter, 1997).

El estudio de biodisponibilidad mineral, en matrices complejas, a través de métodos *in vitro*, los cuales incluyen medidas de solubilidad en un proceso de simulación de la digestión péptica-pancreática, permiten evaluar los cambios inducidos por diversos factores (Ramos et al., 2012). Esta determinación se denomina bioaccesibilidad *in vitro* (Ramos et al., 2012). Mide lo que queda disponible para una posterior absorción y permite hacer comparaciones entre diferentes carnes, por ejemplo (Ramos et al., 2012).

## **1.5. OBJETIVOS**

### **1.5.1. Objetivos generales**

- (1) Determinar el contenido de los minerales de importancia para a la nutrición humana (Fe, Fe *Heme*, Fe *no heme*, Zn y Cu) y de metales pesados, específicamente Cd, Pb y Hg en la carne bovina proveniente de dos sistemas productivos, pasturas y feedlot
- (2) Determinar la bioaccesibilidad *in vitro* de los minerales traza (Fe, Cu, Zn) contenidos en la carne de bovinos producidos a pasturas y feedlot.

### **1.5.2. Objetivos específicos**

- (a) Determinar si hay diferencias entre músculos en el contenido de minerales y metales pesados
- (b) Determinar si hay un efecto de la maduración en el contenido de minerales
- (c) Determinar si hay un efecto del sistema de producción, del músculo y de la maduración sobre la bioaccesibilidad de los minerales.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. ANIMALES Y DIETAS**

Fueron utilizados 20 novillos Aberdeen Angus, de 24-30 meses de edad, 2 dientes, provenientes de dos sistemas de alimentación que predominan en el Uruguay. Estos animales fueron criados de acuerdo con las operaciones comerciales ejecutadas por la Sociedad de Criadores de Aberdeen Angus del Uruguay (SCAAU). Diez de estos animales fueron criados en las condiciones características del Uruguay, con base en la explotación de los recursos naturales por medio del pastoreo extensivo tradicional, alcanzando un peso vivo final promedio de 495,8 kg. En este caso la base alimentaria de los animales fue el campo natural y en la fase de terminación (últimos 130 días antes de la faena) pasaron a consumir pasturas mejoradas (40% pasto natural y 60% pastura sembrada) que consistieron en una mezcla de tres especies: festuca alta (*Festuca arundinacea*), trébol blanco (*Trifolium repens*) y lotus Rincón (*Lotus subbiflorus* cv El Rincón).

Los otros 10 animales con un promedio de peso vivo final de 498,2 kg, procedentes de un sistema de explotación intensiva, destinados al mercado externo (Cuota 481). Los ingredientes de la dieta suministrada en ese período y, para lograr dichas condiciones de elaboración, consistían en ensilaje de planta entera de sorgo, ensilaje de grano húmedo de sorgo, ensilaje de maíz, pellets de girasol, fuentes minerales, urea e ionóforos.

### **2.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS**

Los animales provenientes de ambos sistemas fueron faenados en el Frigorífico BPU (Durazno, Uruguay) el mismo día. A las 36 horas *post mortem* se extrajeron los músculos *Longissimus dorsi* y *Psoas major* que se dividieron en 3 porciones y se envasaron al vacío. Una porción se colocó inmediatamente a -28 °C y las dos fracciones restantes, se maduraron a 1-2 °C durante 14 y 30 días, respectivamente. Luego se congelaron a -28° C hasta análisis de contenido de minerales y preparación de protocolos de bioaccesibilidad.

Las muestras se secaron en estufa a 105° C por 48 horas y luego se incineraron a 578° C en mufla por 72 horas. Las cenizas se diluyeron en plancha de calor (aprox. 80°) con 2 ml de solución de HCl 6N y 2ml de solución de HNO<sub>3</sub> 1N (ultrapuro por destilación a sub ebullición), luego se filtraron con filtros Whatman 40 sin cenizas y se llevaron a solución en matraz de 25 ml con H<sub>2</sub>O desionizada según protocolo de Cabrera et al. (2010).

### **2.3. DETERMINACIÓN DE HIERRO, COBRE Y ZINC**

Se determinaron los minerales traza de las muestras de carne frescas y maduras y en las digestas de cada músculo y de cada tiempo de maduración, según método descrito por Cabrera et al. (2010) y Ramos et al. (2012). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Las determinaciones de Fe, Cu y Zn se realizaron por espectrometría de absorción atómica de llama (Analyst 300, Perkin Elmer, EE.UU.). Todos los reactivos eran de calidad analítica, y se utilizó agua desionizada Millipore-MilliQ a lo largo de los procedimientos.

Los materiales de vidrio y polietileno se remojaron durante al menos 24 horas en agua desionizada con 10 % HNO<sub>3</sub> (Merck, Argentina) y luego se enjuagaron con agua desionizada. Se prepararon soluciones estándar de Fe, Cu y Zn (Perkin Elmer, USA) inmediatamente antes de su uso por dilución (con agua desionizada) de una solución patrón de 1000 mg/l. El control de calidad se realizó mediante la ejecución de patrón de hígado bovino (patrón NIST, SRM 1577b, Gaithersburg, EE.UU.). Los contenidos de minerales traza se expresaron en mg/kg de tejido húmedo.

Para la determinación de metales pesados, Hg, Pb y Cd, se siguió procedimiento de Rey-Crespo et al., 2013) ajustado para carne según AOAC (2002). NOM-117-SSA1-1994, NORMA CE, 333/2007, por Absorción Atómica de llama (Agilent 240AA, con tubo concentrador ACT 80), para Cd y Pb. Para Hg, por técnica de vapor frío, empleando un espectrofotómetro (AGILENT 240 AA), con generador de hidruros (modelo VGA 77). Los resultados se expresaron en ug/g carne tal cual (fresca).

DETERMINACIÓN DE HIERRO heme

Para la determinación de hierro hemínico, se realizó la extracción de hemina con una solución de acetona acidificada, según Hornsey, 1956. Las muestras de 2 g de carne se cortaron finamente y se maceraron en 9 ml de acetona acidificada (en la proporción de 180 ml de acetona: 4 ml de HCl: 16 ml de agua desionizada) en tubos de vidrio durante 4 minutos. Los tubos tapados quedaron en reposo en la oscuridad por una hora y luego el contenido de los mismos fue filtrado con papel de filtro (Whatman GFA). Para cuantificar el hierro *heme* se midieron las muestras a una longitud de onda de 640 nm, en un espectrofotómetro GENESYS 6-UV (Thermo Corporation, USA). El contenido de Fe hemínico fue calculado usando el factor 0,0882 µg Fe/µg de hematina (Hornsey, 1956).

#### **2.4. DETERMINACIÓN DE HIERRO no heme**

El hierro *no heme* se determinó por el método de ferrozina (Ahn et al., 1993, Carter, 1971, Purchas, 2003). Las muestras (2 g) fueron liofilizadas durante 72 horas en liofilizador de mesa (Labotec Group, modelo 0.1 JLG – 12 FD). Se disolvieron 0,5 g de muestra seca en 3ml de Buffer citrato-fosfato 0,1M pH 5,5 y 1ml de ácido ascórbico 2% en 0,2 M HCl. Se dejó reposar a temperatura ambiente por 15 minutos y se agregó 2 ml de TCA 11,3%.

Posteriormente, se centrifugaron a 3000g por 10 minutos (5000 rpm). Se recogieron 2 ml del sobrenadante y se agregaron 0,8ml de acetato de amonio y 0,2ml de reactivo de ferrozina y se pasó por vortex por 1 minuto. Se midió la absorbancia a 562 nm contra curva estándar de sulfato de amonio (Fe II).

Reactivos requeridos:

Buffer Citrato – Fosfato (Ácido cítrico 0,1M 21,01 g/l y Fosfato disódico 0,2 M 35,6 g/l): Para pH 5,5 la relación fue: en 100 ml de solución, 42,4 ml de ácido cítrico y 57,6 ml de fosfato disódico. Se preparó la cantidad justa para usar.

Acetato de amonio 10%: Se preparo 100 ml con 10 g de acetato en polvo.

TCA 11,3%: Se preparo 250 ml con 28,25 ml de la solución madre (TCA 100%).

Ácido ascórbico (25 ml en 0,2 M de HCl): Se pesaron 0,5 g de polvo en matraz aforado de 20 ml, se agregó agua destilada y se agitó. Se agregaron 312,5 microlitros de HCl puro y se completó el volumen con agua destilada.

Estándar de sulfato de amonio ferroso (Fe II).

## **2.5. DETERMINACIÓN DE BIOACCESIBILIDAD *in vitro***

Para la determinación de la bioaccesibilidad de los minerales traza se utilizó el método descrito por Ramos *et al.* (2012), en el cual las muestras fueron sometidas a un tratamiento *in vitro*, donde se simuló una digestión gastrointestinal humana. Para ello se incubaron con pepsina, pancreatina y sales biliares.

La pepsina, pancreatina y las sales biliares fueron obtenidas de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) y las soluciones fueron preparadas en el momento de la simulación. La solución de pepsina se prepara disolviendo 16 g de pepsina (Sigma P-7000) en 100 ml de ácido clorhídrico (HCl) (0.1 M). La solución de pancreatina y sales biliares son preparadas, disolviendo 0.5 g de pancreatina (Sigma P-1625) y 2.5 g de sales biliares (Sigma B-8631), en 100 ml de NaHCO<sub>3</sub> 0.1 M (Sigma Chemicals, St Louis, USA).

Se añadieron 10 g de muestra, previamente cortada, en 1 frasco de plástico de 200 ml junto con 90 ml de agua destilada. El pH se ajustó a 1,35 con HCl. Los frascos se sellaron y se incubaron por 30 minutos en un baño de agua a 37° C con agitación a 90 rpm.

Después de la incubación, se añadió inmediatamente 1 ml de solución de pepsina y la incubación continuó durante 90 minutos más. Posteriormente se elevó el pH de la muestra a 5 por adición gota a gota de NaHCO<sub>3</sub> 1 M (Merck, Argentina) y se añadieron 18,8 ml de solución bilis-pancreatina. Se incubaron las muestras con esta solución durante 2 horas. El proceso de incubación se terminó con el enfriamiento de los frascos en baño de hielo durante 10 minutos.

Posteriormente, se ajustó el pH a 7,2 por adición gota a gota de NaOH 0,5 M y se transfirieron alícuotas de cada muestra digerida (20 ml) a tubos de centrifuga de polipropileno de 50 ml (Costar Corning Europe, Badhoevedorp, The Netherlands) y

se centrifugaron a 3500 rpm por 1 hora a temperatura ambiente (20-22°C). El sobrenadante (fracción soluble) se recogió y se filtró en papel Whatman 40 sin cenizas y se midió el contenido de minerales traza por espectrometría de absorción atómica de llama (Analyst 300, Perkin Elmer, EE.UU.).

## **2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos de contenido y bioaccesibilidad de cada mineral o metal se analizaron por ANOVA GLM, considerando el efecto de la dieta y del tipo de músculo (contenidos minerales en carne fresca) y efecto de la dieta, tipo de músculo y de la maduración (medidas repetidas), en los protocolos que incluyen la maduración. Para separar las medias *post hoc* se usó test de medias de Tukey-Kramer ( $p < 0.05\%$ ) con software NCSS (2010). Además, para el caso de los metales se compararon con los valores máximos tolerables.

### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se determinó la variación del contenido de minerales en la carne de novillos Aberdeen Angus según el músculo, lomo (*Psoas major*) y bife angosto (*Longissimus dorsi*), el sistema de alimentación (pastura y feedlot) y el tiempo de maduración (0, 14 y 30 días).

#### **3.1. CONTENIDO DE HIERRO (Fe)**

El contenido de Fe encontrado en el presente trabajo en el músculo *Psoas major* (PM) oscila entre 25 y 35 mg/Kg de peso fresco y en *Longissimus dorsi*, esta medida oscila entre 20 y 25 mg/Kg de peso fresco.

No se observó un efecto significativo del sistema de alimentación sobre el contenido de Fe. Esto concuerda con los resultados de Duckett et al. (2009) en novillos cruce Angus.

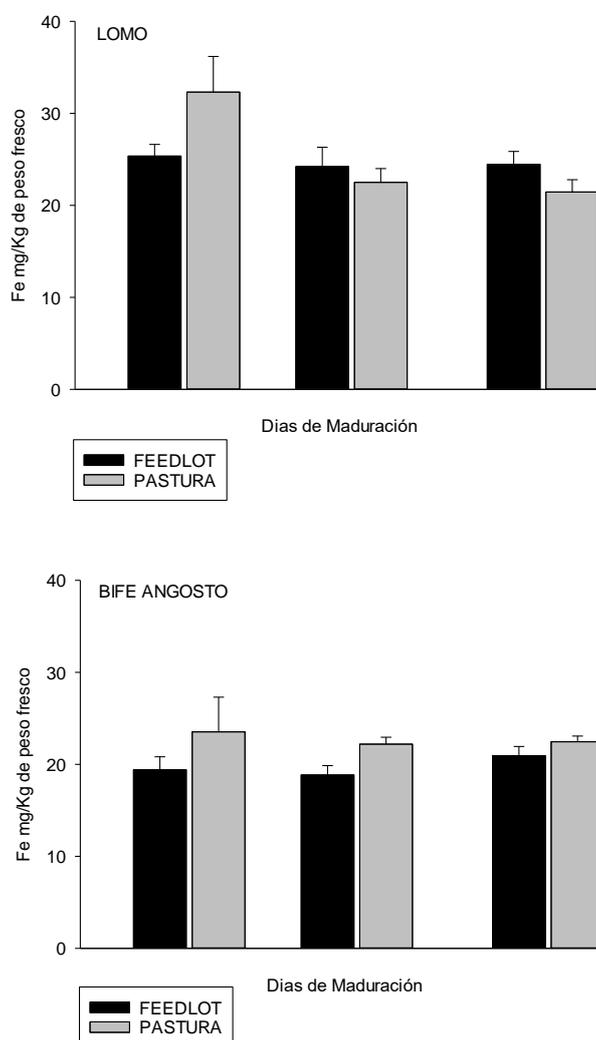
Se observa un efecto del músculo ( $p < 0,001$ ) donde en el PM el nivel de ese mineral resulto superior al nivel en LD. Ramos et. al (2012) también observaron este efecto, constatando que el PM era superior en hierro que el LD, ambos provenientes de pastura en el referido trabajo. Saadoun et. al (2014), constataron la misma superioridad en contenido de hierro en carne fresca de animales alimentados a pasto, así como un más alto nivel de Fe en otros cortes que en LD. Sin embargo, Pereiro (2014) no encontró diferencias entre músculos, al considerar el *Longissimus dorsi*, *Triceps brachii*, y *Biceps femoris* de novillos Aberdeen Angus alimentados a pasturas, pasturas más suplemento de granos y concentrado.

Considerando el proceso de maduración, hubo un efecto significativo ( $p < 0,045$ ) sobre el contenido de Fe. Se encontró un efecto del sistema de alimentación en la carne fresca ( $p < 0,06$ , pastura > feedlot), pero no en la carne madurada. Además se observó un efecto musculo en la carne fresca ( $p < 0,01$ ) y en la carne madurada por 14 días ( $p < 0,05$ ), donde el músculo PM presentó un nivel superior de Fe comparado con el LD. A los 30 días de maduración no se observan diferencias significativas entre músculos (Cuadro n°2).

Por otro lado, para Abdo y Cabrera (2011) la interacción entre los diferentes sistemas de alimentación y tiempo de maduración con relación al contenido de Fe no posee

grandes variaciones, no se observaron pérdidas significativas de este mineral con relación a la maduración de la carne.

En la literatura se carece de datos que fundamenten esa pérdida en contenido de Fe durante la maduración de la carne, se supone que este mineral se pierde con la merma de líquido que se produce después que se procesa el corte.



**FIGURA 1:** Variación del contenido total de hierro durante la maduración larga en los músculos *Psoas major* (PM; lomo) y *Longissimus dorsi* (LD; bife angosto) de novillos Aberdeen Angus provenientes de dos sistemas de producción, Feedlot y Pastura. Los datos representan la media  $\pm$  SEM de 10 animales. En el Cuadro 1 se muestran los efectos principales de la dieta, músculo y maduración por ANOVA medidas repetidas. En el Cuadro 2 se muestran las diferencias estadísticas para cada día de maduración, debido a la dieta y el tipo de músculo. P: pastura; FL: feedlot.

**Cuadro 1: Análisis estadístico considerando dieta, músculo y maduración.**

Efectos principales	
Dieta	NS
Músculo	p<0.001; PM>LD
Maduración	p<0.045; 0>14>30

**Cuadro 2: Análisis estadístico considerando para cada día de maduración la diferencia debido a la dieta o el tipo de músculo.**

Maduración	0	14	30
Dieta	p<0.06; P>FL	NS	NS
Músculo	p<0.01;PM>LD	p<0.05; PM>LD	NS

### 3.2. CONTENIDO DE COBRE (Cu)

El contenido de Cu encontrado en el presente trabajo en el músculo *Psoas major* (PM) oscila entre 0,8 a 1,2 mg de Cu/Kg de peso fresco y en *Longissimus dorsi*, esta medida oscila entre 0,5 y 0,9 mg de Cu/Kg de peso fresco.

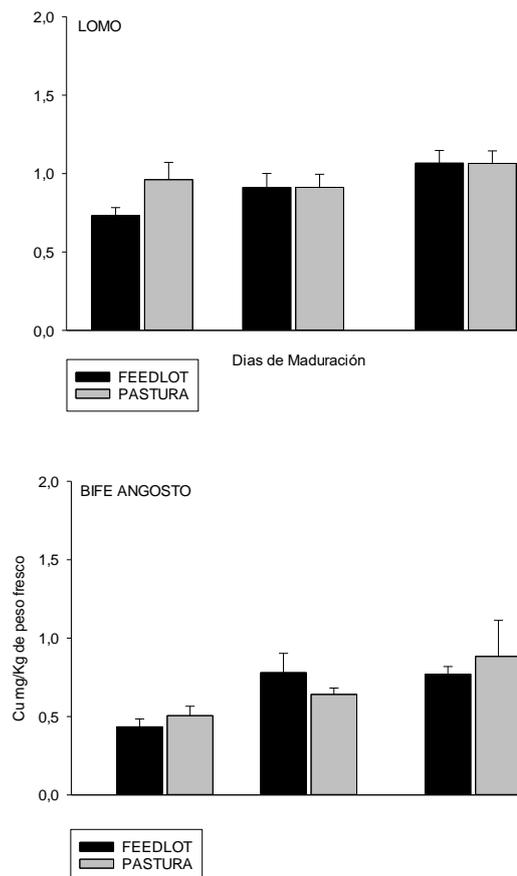
No hubo un efecto significativo del sistema de alimentación sobre el contenido de Cu.

Se observa un efecto significativo ( $p<0.001$ ) del músculo sobre el contenido de Cu, siendo el músculo *Psoas major* (PM), superior al musculo *Longissimus dorsi* (LD), entre animales de pastura y de feedlot. Este efecto también se aprecia en trabajos de Cabrera et.al. (2010) que encontraron diferencias en el contenido de Cu entre los músculos estudiados, pero no encontraron diferencias entre el PM y LD (Tenderloin y Striploin).

El efecto de la maduración sobre el nivel de cobre en la carne es significativo ( $p<0,0001$ ), observando un aumento en el contenido de cobre, proporcional al aumento del tiempo de maduración. En este sentido, Abdo y Cabrera (2011), encontraron un incremento del contenido de Cu en carne madurada en LD, el PM mantuvo el nivel de cobre a lo largo de la maduración, en carne de novillo Hereford. Por otro lado, Ramos et. al. (2012) encontraron un efecto contrario con relación a la maduración, se observó una disminución en el contenido de cobre proporcional a la

maduración. Eso se puede atribuir a que estos autores trabajaron con carne de Hereford y Braford y entre las razas pueden existir diferencias en la absorción de los nutrientes. Son escasos los datos de la literatura sobre el efecto de la maduración en el nivel de cobre en la carne de vacunos, hay que seguir investigando para explicar ese efecto.

Dentro del proceso de maduración, se observó un efecto del sistema de alimentación en la carne fresca ( $p < 0.04$ ,  $\text{pastura} > \text{feedlot}$ ), pero no en la carne madurada. Además, se encontró un efecto músculo en la carne fresca ( $p < 0.001$ ) y en la carne madurada por 14 días ( $p < 0.03$ ), donde el músculo PM presentó un nivel superior de Cu comparado con el LD. A los 30 días de maduración no se observan diferencias significativas entre músculos (Cuadro nº4).



**FIGURA 2:** Variación del contenido total de cobre durante la maduración larga en los músculos *Psoas major* (PM; lomo) y *Longissimusdorsi* (LD; bife angosto) de novillos Aberdeen Angus provenientes de dos sistemas de producción, Feedlot y Pastura. Los datos representan la media  $\pm$  SEM

de 10 animales. En el Cuadro 3 se muestran los efectos principales de la dieta, músculo y maduración por ANOVA medidas repetidas. En el Cuadro 4 se muestran las diferencias estadísticas para cada día de maduración, debido a la dieta y el tipo de músculo. P: pastura; FL: feedlot.

**Cuadro 3: Análisis estadístico considerando dieta, músculo y maduración.**

Efectos principales	
Dieta	NS
Músculo	p<0.001; PM>LD
Maduración	p<0.0001; 0<14<30

**Cuadro 4: Análisis estadístico considerando para cada día de maduración la diferencia debido a la dieta o el tipo de músculo.**

Maduración	0	14	30
Dieta	p<0.04; P>FL	NS	NS
Músculo	p<0.001;PM>LD	P<0.03; PM>LD	NS

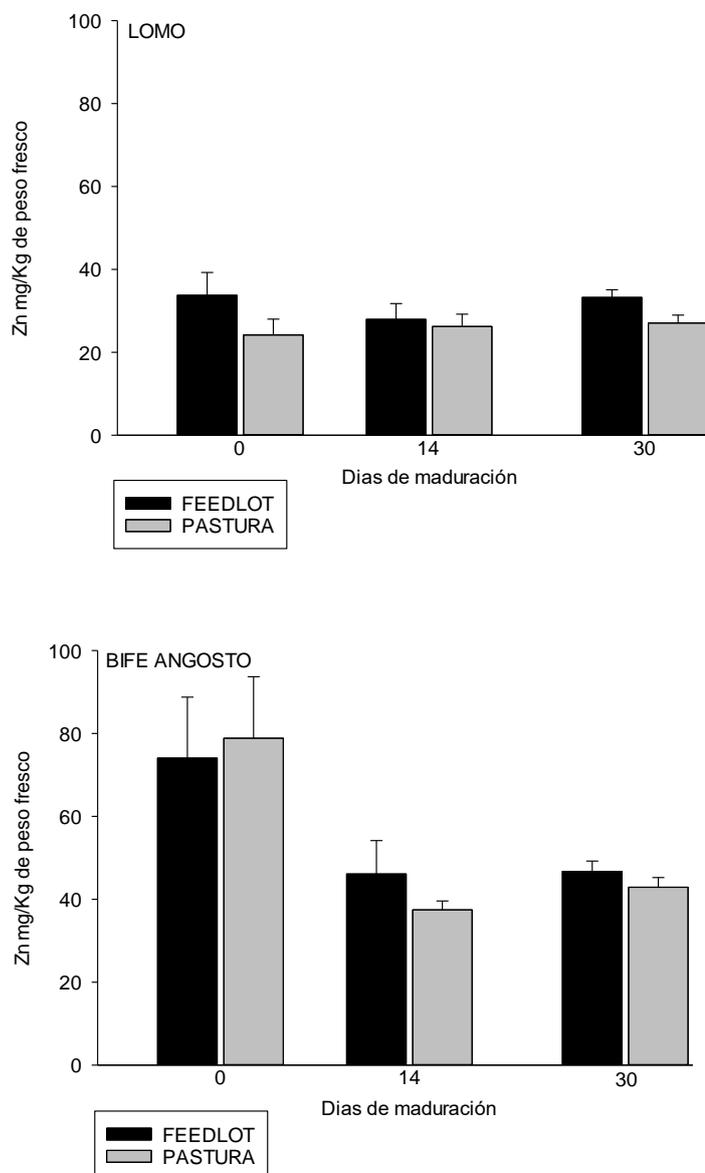
### 3.3. CONTENIDO DE ZINC (Zn)

Se concluye que el *Longissimus dorsi*, con 40 a 80 mg de Zn/kg de peso fresco es superior al contenido de zinc del *Psoas major* (25 y 35 mg de Zn/kg de peso fresco). No se encontró un efecto principal del sistema de alimentación en el contenido de zinc. Esto concuerda con resultados encontrados por Duckett et al. (2009) en novillos cruza Angus. Por otro lado, según Saadoun y col. (2011) los tipos de alimentación tienen efecto significativo sobre el contenido de Zn, en su análisis, se observó que el nivel de Zn en la carne de animales alimentados a pastura es superior a los de animales de feedlot.

Se observó un efecto músculo (p<0.0001) donde el LD presentó un mayor contenido de zinc que el PM. Esto también fue observado por Ramos et al. (2012) en carne de novillos Hereford y Braford alimentados a pasturas. Cabrera et al. (2010) no encontraron diferencias significativas entre estos dos cortes, en el contenido de Zn, pero si observaron un efecto del tipo de músculo considerando los 7 cortes

analizados. El efecto del músculo sobre el contenido de Zn ( $p \leq 0.0001$ ) observado en el estudio de Abdo y Cabrera (2011) se muestra contrario al encontrado en este trabajo. En su análisis, el lomo superó al bife angosto en contenido de Zn.

Además, se pudo observar un efecto de la maduración ( $p < 0.0001$ ) donde el contenido de Zn disminuyó durante el proceso de maduración de 30 días. Este efecto no fue observado por Ramos et al. (2012) durante 14 días.



**FIGURA 3:** Variación del contenido total de zinc durante la maduración larga en los músculos *Psoas major* (PM; lomo) y *Longissimusdorsi* (LD; bife angosto) de novillos Aberdeen Angus provenientes

de dos sistemas de producción, Feedlot y Pastura. Los datos representan la media  $\pm$  SEM de 10 animales. En el Cuadro 5 se muestran los efectos principales de la dieta, músculo y maduración por ANOVA medidas repetidas. En el Cuadro 6 se muestran las diferencias estadísticas para cada día de maduración, debido a la dieta y el tipo de músculo.

**Cuadro 5: Análisis estadístico considerando dieta, músculo y maduración.**

Efectos principales	
Dieta	NS
Músculo	p<0.0001; LD>PM
Maduración	p<0.0001; 0>14>30

**Cuadro 6: Análisis estadístico considerando para cada día de maduración la diferencia debido a la dieta o el tipo de músculo.**

Maduración	0	14	30
Dieta	NS	NS	p<0.03; FL>P
Músculo	p<0.001; LD>PM	P<0.004; LD>PM	p<0.001; LD>PM

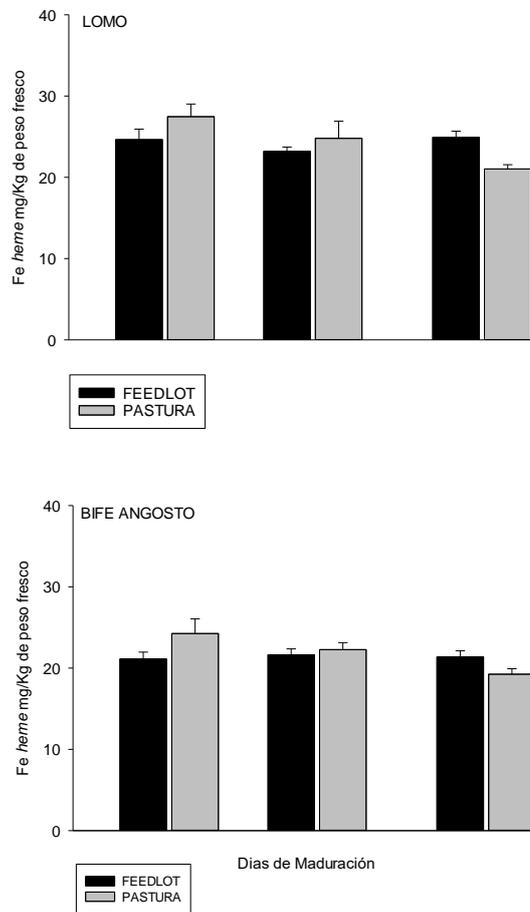
### 3.4. CONTENIDO DE HIERRO HEMÍNICO (Fe heme)

Se observa que el PM, con 20 a 30 mg de Fe *heme*/kg de peso fresco es superior que el LD (20 y 25 mg de Fe *heme*/kg de peso fresco) en contenido de Fe *heme*.

Con respecto al contenido de Fe hemo no se encontró un efecto del sistema de alimentación. Sin embargo, Pereiro (2014) encontró un efecto del sistema de alimentación en novillos de la raza Angus, donde la carne de animales producidos a pasturas presentó un mayor contenido de Fe hemo comparado con la carne de animales en feedlot.

Además, se observó un efecto del músculo (p<0.0001) donde el PM presentó un mayor contenido de Fe hemo que el LD. Esto también fue observado por Ramos et al. (2012) en novillos Hereford y Braford a pasturas.

La disminución en el contenido de Fe *heme* observada con la maduración, también fue observada por Ramos et al. (2012) y Pereiro (2014), lo que se puede atribuir a la exposición al frío.



**FIGURA 4:** Variación del contenido total de hierro *heme* durante la maduración larga en los músculos *Psoas major* (lomo) y *Longissimusdorsi* (bife angosto) de novillos Aberdeen Angus provenientes de dos sistemas de producción, Feedlot y Pastura. Los datos representan la media  $\pm$  SEM de 10 animales. En el Cuadro 7 se muestran los efectos principales de la dieta, músculo y maduración por ANOVA medidas repetidas. En el Cuadro 8 se muestran las diferencias estadísticas para cada día de maduración, debido a la dieta y el tipo de músculo. P: pastura; FL: feedlot.

**Cuadro 7: Análisis estadístico considerando dieta, músculo y maduración.**

Efectos principales	
Dieta	NS
Músculo	$p < 0.0001$ ; PM > LD
Maduración	$p < 0.005$ ; 0 > 14 > 30

**Cuadro 8: Análisis estadístico considerando para cada día de maduración la diferencia debido a la dieta o el tipo de músculo.**

Maduración	0	14	30
Dieta	p<0.04; P>FL	NS	p<0.0001; FL>P
Músculo	p<0.002;PM>LD	NS	P<0.0004; PM>LD

### 3.5. CONTENIDO DE HIERRO NO HEMÍNICO

En el Cuadro 9 se observan los resultados de contenido de hierro no hemínico en los dos tipos de músculo de los dos sistemas de alimentación. No hubo un efecto de la dieta en el contenido de Fe *no heme*. Pereiro (2014) tampoco observó un efecto del sistema de producción entre pastura y feedlot en novillos Angus.

En cuanto al efecto del músculo, el LD presenta un significativamente mayor contenido de Fe *no heme*, que el PM.

Con el proceso de maduración, aumenta el contenido de Fe *no heme* (p<0.05) en la carne, aumenta la pérdida de hierro orgánico (Fe *heme*), aumentando las formas no hemínicas o inorgánicas (férico<sup>+2</sup> y ferroso<sup>+3</sup>). Esta pérdida puede darse por el proceso de proteólisis y el nivel de hierro *heme*, cuanto mayor este último menor proteólisis (Ouali, 1991) durante la maduración, parece que hay mayor proteólisis en el LD (menor hierro *heme*), lo cual resulta en mayor aparición de hierro *no heme*, cualquiera sea la alimentación de los animales. Dentro de cada período de maduración, no se observó efecto del sistema de alimentación, pero si del músculo donde LD>PM (p<0,01), en carne fresca y madurada 14 y 30 días.

**Cuadro 9. Contenido de hierro no hemínico en los músculos Longissimus dorsi (LD) y Psoas Major (PM) madurados a 0, 14 y 30 días bajo vacío, de novillos Aberdeen Angus provenientes de sistema de alimentación pastoril (Pastura) y feedlot (Concentrado).**

Maduración (días)	Pastura		Concentrado		P
	LD	PM	LD	PM	
0	2.54 ± 0.18	1.72 ± 0.14	2.03 ± 0.16	1.40 ± 0.11	Dieta: NS Musculo: p<0.01, LD>PM
14	2.71 ± 0.17	1.61 ± 0.20	2,52 ± 0,16	2.02 ± 0.20	Dieta: NS Musculo: p<0.01, LD>PM
30	2.82 ± 0.15	1.80 ± 0.16	2.58 ± 0.12	2.30 ± 0.18	Dieta: NS Musculo: p<0.01, LD>PM
Efectos principales					
Dieta: NS					
Musculo: p<0.01, LD>PM					
Maduración: p<0.05, 30>0					

*Los datos son la media SEM de n=10 animales por sistema de alimentación. Se muestran los efectos principales de la dieta, musculo y maduración por ANOVA medidas repetidas. Se analizaron el efecto de la dieta y el músculo para cada día de maduración por ANOVA GLM a p<0.05.*

Según Arboitte et al. (2011), el biotipo de los animales tiene influencia sobre la composición mineral de la carne de bife angosto de novillo Aberdeen Angus. Según este estudio, los animales de biotipo mediano y de edad muy precoz logran tener una gran concentración de minerales en la carne. La introducción del biotipo en estudios de la composición de la carne puede ser importante para seleccionar novillos de biotipos que conlleven a mejores características nutracéuticas de la carne.

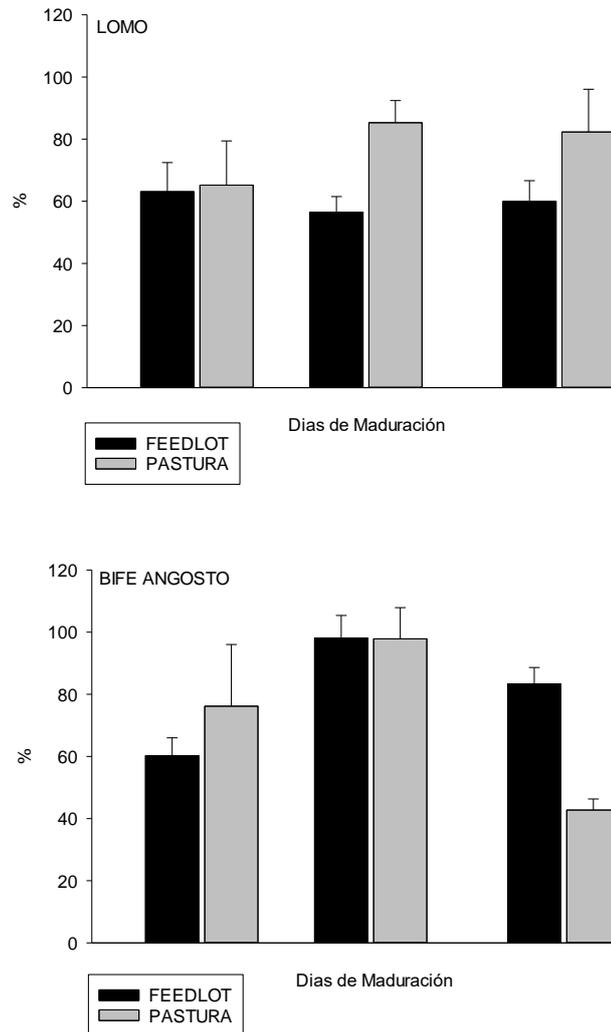
La sustancia mineral del cuerpo comprende varios elementos en cantidades variables, en diferentes partes del cuerpo, de acuerdo a sus funciones. (Rodrigues y Andrade, 2004). Eso puede explicar la diferencia en el contenido de los minerales estudiados entre los diferentes músculos, ya que el LD y el PM pertenecen a regiones distintas del cuerpo del animal. Además, como los minerales están presentes en la porción

magra de la carne, su concentración varía dependiendo de la cantidad de tejido graso y hueso de cada pieza de carne (Rodrigues y Andrade, 2004).

### **3.6. BIOACCESIBILIDAD DEL HIERRO**

Se analizó a través del líquido filtrado resultante de la simulación de la digestión humana la cantidad de Fe que permanece disponible en la carne para absorción a nivel intestinal. Se encontraron valores de bioaccesibilidad de Fe entre 60 y 90% en PM y 40 y 100% en LD. Ramos et al. (2012) observaron una bioaccesibilidad del hierro entre 60 y 70% en *Psoas major* (PM), *Gluteus medius* (GM) y *Longissimus dorsi* (LD) de Hereford y Braford, Según estudio de Rodrigues y Andrade (2004), el hierro de la carne tiene alta biodisponibilidad porque se encuentra asociado a la proteína mioglobina, la cual provee el oxígeno y le da el color rojo del músculo.

En cuanto al efecto de los sistemas de alimentación en cada uno de los músculos estudiados, se pudo observar una mayor bioaccesibilidad del Fe ( $p < 0,05$ ) en el PM de animales alimentados a pasto comparado con los del feedlot, y en el músculo LD no se observó efecto (Figura 5). Pereiro (2014) no halló un efecto del sistema de alimentación sobre la bioaccesibilidad del Fe considerando los 3 músculos estudiados.



**Cuadro 10: Análisis estadístico considerando para cada músculo (PM, LD), la dieta (FL,P) y los días de maduración, la diferencia debido a la dieta o a la maduración.**

Músculo	Dieta	Días de maduración
PM	p<0.05; P>FL	NS
LD	NS	p<0.01; 14>0,30

**FIGURA 5:** Variación de la bioaccesibilidad del hierro durante la maduración larga en los músculos *Psoas major* (lomo) y *Longissimusdorsi* (bife angosto) de novillos Aberdeen Angus provenientes de dos sistemas de producción, Feedlot y Pastura. Los datos representan la media  $\pm$  SEM de 10 animales. En el Cuadro 10 se muestran las diferencias estadísticas para cada músculo, en relación a la dieta y días de maduración.

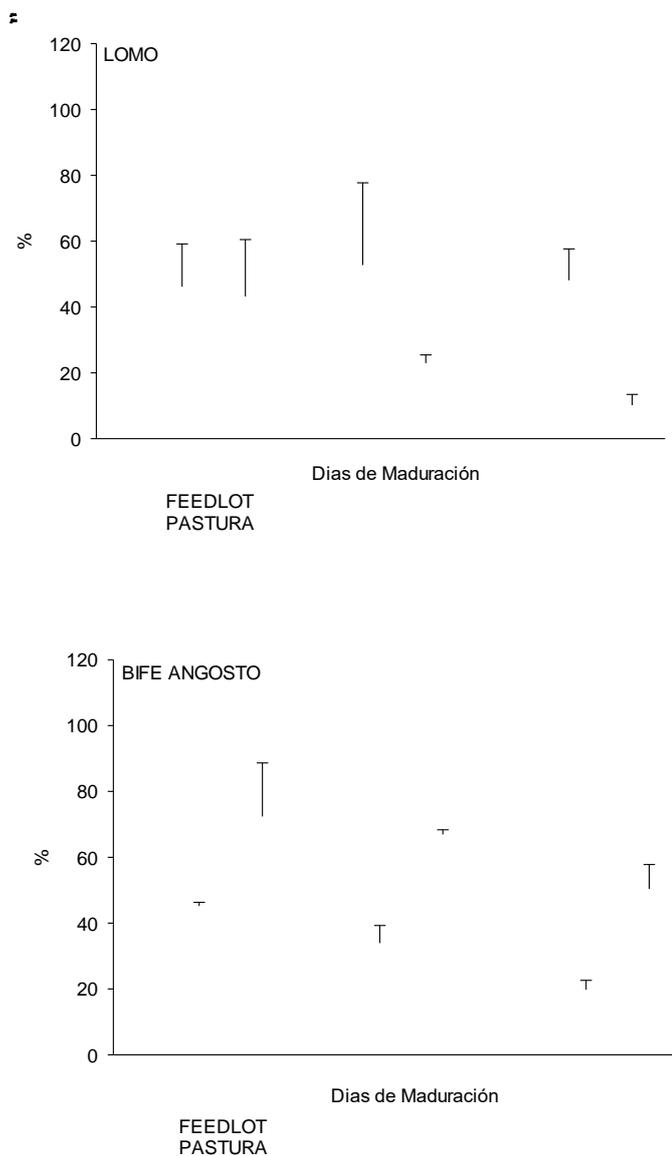
Con respecto al efecto de la maduración, en cada uno de los músculos estudiados, no se observó un efecto significativo en el músculo PM, sin embargo, en el LD existe diferencia significativa ( $p < 0,01$ ), donde la carne a los 14 días de maduración presentó mayor bioaccesibilidad de Fe que la carne fresca y madurada por 30 días. Por otro lado, según Ramos et. al. (2012) y Pereiro (2014) la bioaccesibilidad de Fe no parece ser afectada por la maduración durante 14 días, en carne vacuna.

### **3.7. BIOACCESIBILIDAD DEL COBRE**

En la figura 6, se puede observar la variación de la bioaccesibilidad del cobre. Se observó un nivel bajo de bioaccesibilidad en comparación con el presente trabajo. En el presente estudio, la bioaccesibilidad del cobre en LD y PM está entre 20 y 70%, mientras que en el estudio citado oscila entre 30 y 50%.

Se verificaron diferencias dentro de cada músculo en lo concerniente a la dieta para el LD (bife angosto) y no para el PM. La carne de pastura presentó una mayor bioaccesibilidad del cobre que la carne de feedlot en el músculo LD ( $p < 0.0004..$ ). En este músculo, la bioaccesibilidad del Cu disminuye con el aumento de los días de maduración. Sin embargo, en el PM no se observó un efecto de la maduración. Este mismo resultado fue hallado por Ramos et al. (2012) en carne de novillos Hereford y Braford.

Comparando los músculos, Ramos et al. (2012) encontraron un nivel de bioaccesibilidad del cobre que es significativamente superior en el músculo *Gluteus medius* (GM) en las dos razas y el nivel más bajo que encontraron fue en lomo de Braford. En el presente estudio, el bife angosto de animales alimentados a pastura supera el nivel de bioaccesibilidad del lomo independientemente del tipo de dieta. Esto se puede atribuir a la cantidad de cobre existente en las tierras uruguayas, además se puede decir que probablemente haya un efecto de raza en este resultado, pudiéndose deducir que los animales de la raza Angus son superiores en bioaccesibilidad de cobre que los Hereford o Braford.



**Cuadro 11: Análisis estadístico considerando para cada músculo (PM, LD), la dieta (FL,P) y los días de maduración, la diferencia debido a la dieta o a la maduración.**

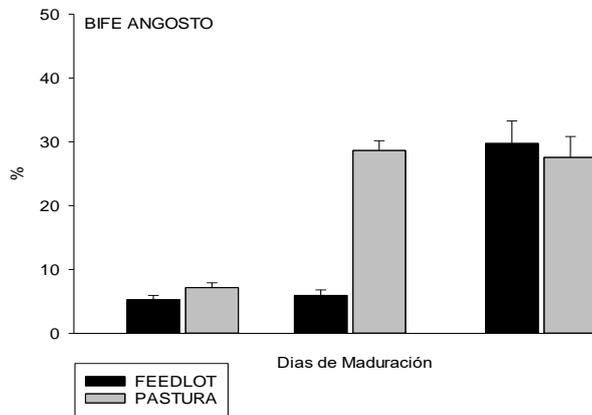
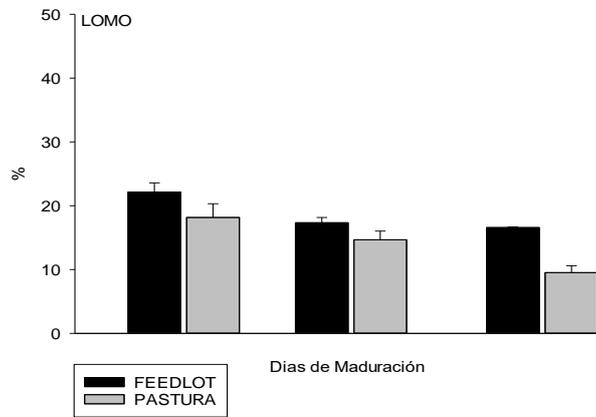
Músculo	Dieta	Días de maduración
PM	NS	NS
LD	p<0.0004; P>FL	p<0.029; 0, 14>30

**FIGURA 6:** Variación de la bioaccesibilidad del cobre durante la maduración larga en los músculos *Psoas major* (lomo) y *Longissimusdorsi* (bife angosto) de novillos Aberdeen Angus provenientes de dos sistemas de producción, Feedlot y Pastura. Los datos representan la media  $\pm$  SEM de 10 animales. En el Cuadro 11 se muestran las diferencias estadísticas para cada músculo, en relación a la dieta y días de maduración.

### **3.8. BIOACCESIBILIDAD DEL ZINC**

En la figura 7 se aprecian los resultados del análisis de bioaccesibilidad de Zn de la carne a pastura vs encierro. Se observó que la bioaccesibilidad del Zn oscila entre 10 y 25% en el músculo PM y entre 5 y 35 % en LD.

El análisis que compara en cada músculo muestra que para el PM hay una mayor bioaccesibilidad del zinc en feedlot que en pastura ( $p < 0,05$ ), mientras que para LD la bioaccesibilidad del zinc es mayor en la carne de pastura que de feedlot ( $p < 0,001$ ). En este músculo, se observa que con la maduración hay un aumento de la bioaccesibilidad del zinc. Dicho resultado no se observa en el PM, en el cual no se observó un efecto de la maduración. Este resultado tiene importancia nutricional y le da al LD un valor nutricional diferencial. En el trabajo de Ramos et al. (2012) tampoco se observó un efecto de la maduración sobre la bioaccesibilidad del zinc, pero se observó que la bioaccesibilidad del Zn muestra un importante efecto del músculo, donde el LD supera al PM, al revés de lo que pasa en este trabajo, en el cual la carne de lomo es superior.



**Cuadro 12: Análisis estadístico considerando para cada músculo (PM, LD), la dieta (FL,P) y los días de maduración, la diferencia debido a la dieta o a la maduración.**

Músculo	Dieta	Días de maduración
PM	p<0.05; FL>P	NS
LD	p<0.001; P>FL	p<0.001; 0<14<30

**FIGURA 7:** Variación de la bioaccesibilidad del zinc durante la maduración larga en los músculos Psoas mayor (lomo) y Longissimusdorsi (bife angosto) de novillos Aberdeen Angus provenientes de dos sistemas de producción, Feedlot y Pastura. Los datos representan la media SEM de 10 animales. En el Cuadro 12 se muestran las diferencias estadísticas para cada músculo, en relación a la dieta y días de maduración.

### **3.9. CONTENIDO DE METALES CONTAMINANTES Hg, Cd Y Pb**

Analizando el contenido de metales contaminantes en la carne de novillos Aberdeen Angus, se observó que en animales alimentados con dieta concentrada tienen una mayor posibilidad de absorber este tipo de componente, debido a que las dietas son elaboradas con granos que, a su vez pueden ser fertilizados con insumos fosfatados importados que suelen contener, aunque en pequeñas cantidades, residuos de metales pesados.

En el presente estudio, no se encontraron residuos significativos de Cd en la carne de novillos de los dos sistemas, sin embargo, si se detectaron niveles significativos de mercurio en la carne de animales alimentados con concentrado, y de Pb en la carne de animales de ambos sistemas. Esto se puede justificar por la presencia de residuos de este mineral en el suelo o en el agua de algunas regiones de nuestro país.

Los valores encontrados se encuentran por debajo de los Límites Máximos de Residuos permitidos por la Unión Europea. Los valores encontrados están expresados en microgramo por gramo de carne fresca y los Límites Máximos se expresan en miligramos por kilogramo de peso del individuo. De esta forma, se concluye que los niveles de residuos de metales encontrados en este estudio están 10 veces por debajo de los Límites Máximos permitidos, por lo tanto, no revisten ningún tipo de peligro. Por ejemplo, si

Obeid et al. (2014), en estudio sobre el nivel de cadmio y plomo en productos cárnicos, encontraron amplias variaciones de las concentraciones de Pb y Cd. Se observa un nivel más alto de cadmio que de plomo tanto en carne enlatada como procesada. Asimismo, hubo variación entre las marcas utilizadas en el estudio. Eso se puede atribuir a factores extrínsecos al envasado, como, por ejemplo, el origen de la carne. Cuando compararon las concentraciones más altas de Pb y Cd en carne enlatada y procesada, los datos mostraron que la carne enlatada contenía 13.3 veces más Pb que en la carne procesada, mientras que las carnes enlatadas contenían 19.4 veces más Cd que en las procesadas. Esta diferencia puede atribuirse a la bioacumulación del medio ambiente o durante el período de alimentación antes del sacrificio o incluso de la lixiviación de los metales de la propia lata, lo que es muy

difícil cuantificar. Los niveles de cadmio encontrados a lo largo del estudio llegaron a ultrapasar los límites máximos de ingestión de este metal, lo que resulta preocupante al optar por consumir estos tipos de productos.

**Cuadro 13. Contenido de Hg, Cd y Pb en los músculos *Longissimus dorsi* (LD) y *Psoas major* (PM) frescos de novillos Aberdeen Angus provenientes de sistemas de alimentación a pasto (Pastura) y concentrado con encierro (Concentrado).**

Item	Sistema de alimentación				PTTIL (mg/kg peso diario) Niños
	Pastura		Concentrado		
	Músculos				
	LD	PM	LD	PM	
Hg ( $\mu\text{g/g}$ )	nd	nd	0.126 $\pm$ 0.030	0.184 $\pm$ 0.010	0,10
Cd ( $\mu\text{g/g}$ )	nd	nd	nd	nd	0,050
Pb ( $\mu\text{g/g}$ )	0.08 $\pm$ 0.02	nd	0.22 $\pm$ 0.01	0.146 $\pm$ 0.012	0,10

Hg: LD= 0.05 mg/kg, LC=0.15 mg/kg; Pb: LD=0.07mg/kg, LC=0.2 mg/kg; Cd: LD=0.0007mg/kg, LC=0.002mg/kg

PTTDIL= provisional total tolerable daily intake levels (FDA).

#### 4. CONCLUSIONES

No hubo un efecto marcado de la dieta para el contenido de Fe, Fe *heme*, Fe *no heme*, Cu y Zn, cuando se consideraron todos los factores (dieta, músculo y maduración). Sí aparece un efecto músculo muy marcado para PM el cual contiene más Fe y Fe *heme* y menos Fe *no heme*, mientras que el LD contiene menos Fe total y Fe *heme* y más Fe *no heme*.

En cuanto a los diferentes tiempos de maduración, se detectó un efecto marcado de la maduración, siendo lo más destacable que la maduración disminuye el Fe *heme* en carne de pastura y no en carne de feedlot. La maduración aumenta el nivel de Cu y baja el nivel de Zn, principalmente en LD.

Los valores de bioaccesibilidad de Fe, Cu y Zn se presentaron distintos entre los diferentes músculos y tempos de maduración, no habiendo efecto significativo de la dieta, excepto cuando se consideró cada músculo por separado.

Se encontraron muy bajos niveles de metales contaminantes, tanto en carne de pastura como de feedlot, pero serían necesarios más estudios para poder concluir.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- Abdo, A., & Cabrera, C. (2011). Variaciones del contenido de Fe, Fe hemínico, zinc, Cu y manganeso de novillos Hereford terminados a grano. Tesina Bioquímica. Facultad de Ciencias. Colibri. 2011.56 pp.
- Angus Uruguay, Sociedad de Criadores de Aberdeen Angus del Uruguay (SCAAU). <http://angusuruguay.com/>
- Ahn, D. U., Wolfe, F. H., & Sim, J. S. Three methods for determining non-heme iron in turkey meat. *J. Food Sc.* 1993, 58, 289–291.
- Baech, S. B., Hansen, M., Bukhave, Kristensen, L., Jensen, M., Sørensen, S. S., Purslow, P. P., Skibsted, L. H. y Sandström, B. Increasing the Cooking Temperature of Meat Does Not Affect Nonheme Iron Absorption from a Phytate-Rich Meal in Women. *J. Nutr.* 2003, 133, 94-97.
- Barbosa, & Caroline, A. (2013). Aspectos positivos relacionados ao consumo de carne bovina, 1–38.
- Batán, J.M., Metales pesados em alimentación animal. XVII Curso de Especialización FEDNA, 2001. \*COREN S.C.L., 32003 Orense. Disponible en: [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)
- Bender, A., Meat and meat products in human nutrition in developing countries. Commissioned jointly by the Animal Production and Health Division and the Food Policy and Nutrition Division of FAO FAO FOOD AND NUTRITION PAPER 53, Rome,1992
- Cabrera, M. C., del Puerto, M., Barlocco, N. y Saadoun, A. 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. *Agrociencias.* 2007, IX, 105-108.
- Cabrera, M.C., Ramos, A., Saadoun, A., Brito,G. Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from Hereford and Braford steers fed

- pasture in Uruguay. *Meat Science* 84 (2010) 518–528.
- Cabrera, M. C. (2010). Minerales y metales en los productos animales : un desafío para la diferenciación por calidad, *Agrociencia* 54–56.
- Cabrera, M. C., & Saadoun, a. (2014). An overview of the nutritional value of beef and lamb meat from South America. *Meat Science*, 98, 435–444.
- Camargo, A. M., Rodrigues, V. C., Ramos, K. C. B. T., Oliveira, É. C. D. de, & Medeiros, L. F. D. (2008). Composição mineral da carne de bovinos de diferentes grupos genéticos com idades distintas. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, 9(3), 578–584. Retrieved from <http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/view/920/678>
- Cardero Reyes Y, Sarmiento González R, Selva Capdesuñer A. Importancia del consumo de hierro y vitamina C para la prevención de anemia ferropénica [artículo en línea]. *MEDISAN* 2009; 13(6)[consulta: 17/10/2010].
- Carter, P. Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). *Anal. Biochem.* 1971, 40, 450–458.
- Clark, E. M., Mahoney, A. W. y Carpenter, C. E. Heme and total iron in ready-to-eat chicken. *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45, 124 – 126.
- Daun, C., Lundh, T., Önnings, G. y Åkesson, B. Separation of soluble selenium compounds in muscle from seven animal species using size exclusion chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* 2004, 19, 129-134.
- Depertis, G & Santini, F, Calidad de carne asociada al Sistema de producción. Grupo de Nutrición, Metabolismo y Calidad de Producto. INTA. Estación Experimental Balcarce, 2005. Sitio Argentino de Producción animal. Disponible en: [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/carne\\_y\\_subproductos/63-calidad\\_carne.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/carne_y_subproductos/63-calidad_carne.pdf)

- Descalzo, A., E. M. Insani, A. Biolatto, A. M. Sancho, P. T. Garcya, N. A. Pensel, and J. A. Josifovich. 2005. Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/ oxidative balance of Argentine beef. *Meat Sci.* 70: 35–44.
- DIEA – MGAP, Anuario estadístico Agropecuario de año 2015, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca – Oficina de Estadísticas Agropecuarias. Disponible en: [www.mgap.gub.uy/diea](http://www.mgap.gub.uy/diea)
- DIEA – MGAP, Anuario estadístico Agropecuario de año 2017, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca – Oficina de Estadísticas Agropecuarias. Disponible en: [www.mgap.gub.uy/diea](http://www.mgap.gub.uy/diea)
- Etcheverry, P., Hawthorne, K. M., Liang, L. K., Abrams, S. A. y Griffin, I. J. Effect of Beef and Soy Proteins on the Absorption of Non-Heme Iron and Inorganic Zinc in Children. *J. Am. Col. Nutr.* 2006, 25(1), 34–40.
- Feijó, M. B., Jacob, S. do C., Mano, S. B., Fernandes, M. L., & Moraes, M. lima de. (2009). Composição Centesimal e Perfil de Minerais da Carne de Avestruz (*Struthio Camellus*). Chemical Composition and Mineral Profile of. *Rev. Assoc. Bras. Nutr.*, 2, 28–34.
- Finley, J. W. Does selenium accumulation in meat confer a health benefit to the consumer? *J. Anim. Sci.* 2000, 77:1-10.
- Gava, J.A., Princípios da tecnologia dos alimentos. NBL Editora, 1978 - 284 páginas. São Paulo.
- Gonçalves, É. C. B. D. A., Teodoro, A. J., & Takase, I. (2007). Teores de cobre em extratos de carne in natura e processada. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 27(2), 298–302. <http://doi.org/10.1590/S0101-20612007000200015>
- Grohnert, M. O., Durán, C. C., Olgúin, M. A., & Uauy, R. (2004). Cobre y zin en nutrició humana.
- Hereford Uruguay, Sociedad de Criadores de Hereford en Uruguay, <https://www.hereford.org.uy/>

- Hernández, R. a. (2002). Carne Argentina: Una especialidad, INTA. Publicación Técnica N° 38, ISSN – 0326-5803. [www.produccion-animal.com.ar1-16](http://www.produccion-animal.com.ar1-16)
- Hornsey, H. C. The colour of cooked cured pork. I. Estimation of the nitric oxide-haem pigments. *J. Sci. Food Agric.* 1956, 7, 534 – 540.
- Hurrell, R. F., Reddy, M. B., Juillerat, M. y Cook, J. D. Meat Protein Fractions Enhance Nonheme Iron Absorption in Humans. *J. Nutr.* 2006, 136, 2808-2812.
- IARC. Cadmium and cadmium compounds. En: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 58, beryllium, cadmium, mercury and exposures in the glass manufacturing industry. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 1993.
- INAC. Instituto Nacional de Carnes, Dirección de Información y Analisis Economico. Informe Estadístico, Año Agrícola 2015. Montevideo, 2015.
- Kapolna, E. y Fodar, P. Bioavailability of selenium from selenium-enriched green onions (*Allium fistulosum*) and chives (*Allium schoenoprasum*) after “in vitro” gastrointestinal digestion. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2007, 58, 1-15.
- Larrañaga, M. R. M., Fernández, A. M. C., Rovira, R. F., Puerta, C. N. de la, & Martínez, A. P. (2011). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a la evaluación del riesgo de la exposición de la población española a cadmio por consumo de alimentos, 5(Grupo 1). Retrieved from <http://www.elika.net/datos/articulos/Archivo793/Cadmio AESAN.pdf>
- Lombardi-Boccia, G., Lanzi, S. y Aguzzi, A. Aspects of meat quality: trace elements and B vitamins in raw and cooked meats. *J. Food Comp. Anal.* 2005, 18, 39-46.
- Lombardi-Boccia, G., Martínez-Domínguez, B. y Aguzzi, A. Total heme and non-heme iron in raw and cooked meats. *J. Food Sci.* 2002a, 67, 1738 – 1741.
- López de Romaña, D., Castillo D, C., & Diazgranados, D. (2010). El Zinc En La Salud Humana - Ii. *Revista Chilena de Nutrición*, 37(2), 240–247. <http://doi.org/10.4067/S0717-75182010000200014>

Mateo, D & Col, Manual de carnes bovina y ovina. INAC. Instituto Nacional de Carnes

ISBN 9974-56-323-2, Montevideo, 2004. Disponible en: [www.inac.gub.uy](http://www.inac.gub.uy)

Miller, R. G. (n.d.). Ganadería en el Uruguay. Suplemento Tecnológico, 2006. Disponible en:

[http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/ara/ara\\_192.pdf](http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/ara/ara_192.pdf)

Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Estadísticas Agropecuarias. La ganadería en Uruguay, contribución a su conocimiento. MGAP, Area de Estudios Economicos, Montevideo, 2003.

Montaña, J. R. G. (2009). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias Metales pesados en carne y leche y certificación para la Unión Europea ( UE ), (2009), 1–5.

Navas-Carretero, S., Pérez-Granados, A. M., Sarriá, B. y Vaquero, M. P. Iron absorption from meat pate fortified with ferric pyrophosphate in iron-deficient women. *Nutrition*. 2009, 25(1):20-4.

Pereiro, M. Contenido y bioaccesibilidad *in vitro* del Hierro en musculos de novillos Aberdeen Angus alimentados a pastura, pastura más suplemento y feedlot TESIS, Facultad de Ciencias, Licenciatura en Bioquímica. Montevideo, 2014.

Purchas, R. W. y Busboom, J. R. The effect of production system and age on levels of iron, taurine, carnosine, coenzyme Q10, and creatine in beef muscles and liver. *Meat Sci.* **2005**, 70, 589-596.

Purchas, R. W., Simcock, D. C., Knight, T. W. y Wilkinson, B. H. P. Variation in the form of iron in beef and lamb meat and losses of iron during cooking and storage. *Int. J. Food Sci. Tech.* **2003**, 38, 827-837.

Ramos, A., Cabrera, M.C., Saadoun, A. 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 (2012) 116–124.

Realini, C. E., S. K. Duckett, G. W. Brito, M. Dalla Rizza, and D. De Mattos. 2004. Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on

- carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Sci.* 66:567–577.
- Rey-Crespo F., Miranda M, López-Alonso M., (2013). Essential trace and toxic element concentrations in organic and conventional milk in NW Spain. *Food and Chemical Toxicology* 55: 513–518
- Roldán, D.R., Influencia de la dieta e la calidad de la carne. Monografía para obtención del Título de Veterinario Zootecnista, Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Ecuador, 2008.
- Ros, E. (2001). Introducción a los alimentos funcionales. *Medicina Clínica*, 116(16), 617–619. [http://doi.org/10.1016/S0025-7753\(01\)71924-0](http://doi.org/10.1016/S0025-7753(01)71924-0)
- Rubio, C., Gutiérrez, a. ., Martín Izquierdo, R. ., Revert, C., Lozano, G., & Hardisson, a. (2004). El plomo como contaminante alimentario. *Toxicol*, 72–80. <http://doi.org/10.1590/S0036-36342010000200010>
- Saadoun, A., A. Ramos, R. Palma, y M.C. Cabrera. 2011. Contenido de hierro, zinc y selenio en la carne de novillos Angus proveniente de tres sistemas de alimentación en Uruguay. *Anuario Angus 2011*, Uruguay, pp.132-135.
- Saadoun, A., Cabrera, M.C. 2012. Calidad nutricional de la carne bovina producida en Uruguay. XVI Congreso Venezolano de Producción Animal, VI Congreso Internacional de Ganadería Doble Propósito, Maracaibo, Venezuela
- Sager, M. Selenium in agriculture, food, and nutrition. *Pure Appl. Chem.* **2006**, 78(1):111–133.
- Sanz Pérez, B. (2007). Riesgos sanitarios de los contaminantes y residuos químicos, medicamentosos y ambientales en los alimentos. *Monografías de La Real Academia de Farmacia.*, XXII, 245–275.
- Simeone, A., & Beretta, V. (2000). Granos en invernada: falso dilema. consideraciones sobre la utilización de alimentos concentrados en sistemas de cría y engorde de ganado bovino 1.

- Teira, G., Perlo, F., Bonatto, P., Tisocco, O. Calidad de carnes bovinas. Aspectos nutritivos y organolépticos relacionados con sistemas de alimentación y prácticas de elaboración. Laboratorio de Industrias Cárnicas, Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos -UNER. Ciencia, Docencia y Tecnología N° 33, Año XVII, Argentina, noviembre de 2006.
- Terevinto, A. 2010. Oxidación lipídica y proteica, capacidad antioxidante y actividad de las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa en la carne fresca y madurada de novillos Hereford y Braford”. Tesis Maestría Ciencias Agrarias. Facultad de Agronomía. Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay.
- Vidal, V. M. A., Castellanos, A. F., & Herrera, F. (2007). Detección de metales pesados y dicloro difenil tricloro etano ( DDT ) en músculos y órganos de bovinos en Yucatán Detection of heavy metals and DDT in the muscles and organs of cattle in Yucatan, Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 45(2), 237–247.
- Zarkadas,C.G., Marshall, W.D., Khalili, Nguyen, Q., Karatzas, C.N., Khanizadeh, S., Mineral Composition of Selected Bovine, Porcine and Avian Muscles, and Meat Products. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1987.tb06665.x>
- Zheng, J., Mason, J. B., Rosenberg, I. H. y Wood, R. J. Measurement of zinc bioavailability from beef and a ready-to-eat high-fiber breakfast cereal in humans:application of a whole-gut lavage technique. *Am. J. Clin. Nutr.***1993**, 58, 902-907.