

## Evaluación de la Bioaccesibilidad de Se, Cu y Zn en leche de vaca en un modelo de digestión *in vitro* y posterior análisis por DRC-ICP-MS.

Isis S. Permigiani<sup>a</sup>, Marcos Kaplan<sup>b</sup>, Cristian Bazán<sup>a,b</sup>, Luis D. Martinez<sup>a,b</sup>, Raúl A. Gil<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Espectrometría de Masas – Instituto de Química de San Luis (CCT-San Luis) y

<sup>b</sup>Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia – (UNSL)

[sabrinapermigiani@gmail.com](mailto:sabrinapermigiani@gmail.com)

**INTRODUCCION:** La Bioaccesibilidad se define como la fracción de un compuesto que se libera en el tracto gastrointestinal y por lo tanto se hace disponible para la absorción. La leche vacuna es un alimento básico, que forma parte de la dieta dado su alto contenido de nutrientes. Si bien su composición proteica así como su contenido en grasas está ampliamente estudiado, la información sobre el contenido de micronutrientes esenciales con potenciales beneficios para la salud, como lo son los minerales Se, Cu y Zn es realmente escasa.

**EXPERIMENTAL:** En este contexto se desarrolló un modelo de digestión *in vitro* para leche de vaca ultrapasteurizada entera con el fin de determinar el contenido de Se, Cu y Zn mediante ICP-MS con celda de reacción para la obtención de límites de detección ultra sensibles en las fracciones solubles representativas de boca, estómago e intestino. El mismo consistió en incubar un volumen de muestra y 20 mL de agua Ultrapura en un biorreactor a 36,5 °C con una agitación de 120 rpm durante 15 minutos; se tomó 1 mL de muestra (fase 0: boca), y posteriormente se adicionaron 170µL de HCl 6 mol L<sup>-1</sup> y 2 mL de solución gástrica (0,04 g mL<sup>-1</sup> de pepsina porcina en HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>), se incubó nuevamente a 36,5° C con agitación de 120 rpm durante 60 minutos, se tomó 1 mL de muestra (fase 1: gástrica), y por último, se adicionaron 9 mL de solución intestinal (2 mg mL<sup>-1</sup> de pancreatina, 12 mg mL<sup>-1</sup> de sales biliares disueltas en NaHCO<sub>3</sub>), se incubó una vez más a 36,5°C y 120 rpm durante 120 minutos. Se tomó 1 mL (fase 2: intestinal). Las muestras correspondientes a las fases 0, 1 y 2, fueron colocadas en baño de hielo inmediatamente, y luego fueron centrifugadas a 1400 rpm durante 20 minutos.

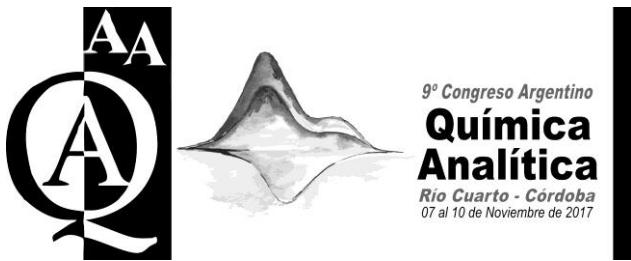
Se realizó una mineralización con HNO<sub>3</sub> 65 % (p.v<sup>-1</sup>) y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% (v.v<sup>-1</sup>) para la determinación del contenido total de los minerales en la leche.

**RESULTADOS Y CONCLUSIONES:** Las muestras resultantes de la digestión *in vitro* y la mineralización fueron analizadas mediante ICP-MS, a partir de la información obtenida se calculó la bioaccesibilidad como:

$$\text{Bioaccesibilidad\%} = \frac{[A]}{[A]_T} \times 100$$

Donde [A] es la concentración del mineral en la fase de la digestión simulada (boca, estomago o intestino) y [A]<sub>T</sub> la concentración total del mineral en la leche.

Los cálculos de bioaccesibilidad indicaron que en la fase intestinal se libera en mayor proporción el Se; mientras que el Cu y el Zn se liberan en mayor proporción en la fase gástrica. En los tres casos, por el contrario, no se observa liberación de los minerales en la fase 0.



**REFERENCIAS:** [1] Andrew B. Do, Kristina Williams, Ondulla T. Toomer. *In vitro* digestibility and inmunoreactivity of bovine milk proteins. *Food Chemistry* 190 (2016) 581 - 587.  
[2] Elisabet Fernández García, Irene Carvajal-Lérida, Antonio Pérez Gálvez. *In vitro* bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition Research* 29 (2009) 751 – 760.  
[3] Miguel de la Guardia, Salvador Garrigues. *Mineral Elements in Food*. Wiley Blackwell. First Published 2015. Valencia, España.

Para la determinación de la bioaccesibilidad de los minerales se adaptó un modelo de digestión *in vitro* propuesto por Ruby et. al [3] con algunas modificaciones. La simulación de la digestión se llevó a cabo dentro de un shaker utilizando como bioreactores, erlenmeyers con tapa. Se colocaron 7 ml de leche en el bioreactor y se le adicionaron 20 ml de agua milliq, se incubaron durante 15 minutos a 36,5°C y 120 rpm. Transcurrido este tiempo se tomó 1 ml de muestra, se centrifugó a -5°C y 5500 rpm por 20 min, el sobrenadante constituye el digesto correspondiente a la fase boca ( $M_0$ ). Se continuó con la adición de 0,17 ml de HCl 6 mol/L y 2 ml de solución gástrica fresca (0,04g/ml de pepsina disuelta en HCl 0,1 mol/L) al bioreactor que se incubó nuevamente a 36,5°C y 120 rpm por 60 min. Despues de este tiempo se detuvo la reacción enzimática colocando el bioreactor en un baño de hielo, luego se tomó 1 ml de muestra, se centrifugó a -5°C y 5500 rpm por 20 min; el sobrenadante constituye el digesto representativo a la fase gástrica ( $M_1$ ). La etapa intestinal se llevó a cabo adicionando al bioreactor 9 ml de solución intestinal fresca (2mg/ml de pancreatina y 12 mg/ml de sales biliares disueltas en  $\text{NaHCO}_3$  0,1 mol/L). Se incubó una ultima vez a 36,5°C y 120 rpm durante 120 min. Se detuvo la reacción con baño de hielo transcurrido ese tiempo y se tomó 1 ml de muestra, se trato de igual modo que las anteriores; el sobrenadante constituye el digesto representativo de la fase intestinal ( $M_2$ ).