

# 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

Víctor M. Alcocer Vidal<sup>†</sup>, Arturo F. Castellanos Ruelas<sup>a</sup>, Francisco Herrera Chalé<sup>b</sup>, Luis A. Chel Guerrero<sup>a</sup>, David A. Betancur Ancona<sup>a</sup>

### RESUMEN

El objetivo fue determinar cobre (Cu), plomo (Pb), cadmio (Cd), mercurio (Hg), arsénico (As), dicloro difenil tricloro etano (DDT) y sus metabolitos, en músculos y órganos de bovinos sacrificados en Mérida, Yucatán, México, durante trece meses. Se muestrearon músculo pectoral, riñón e hígado en el rastro de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (RVet) (n=255) y en el rastro Municipal de Mérida (RMun) (n=225), de abril de 2001 a abril de 2002. Se analizaron mediante espectrofotometría de absorción atómica, empleando lámparas de cátodo hueco y un quemador de aire-acetileno para determinar Cu, Pb y Cd, vapor frío (Hg) o mediante generación de hidruros (As). El DDT y sus metabolitos fueron determinados empleando un cromatógrafo de gases con un detector de captura de electrones. Los resultados se analizaron calculando su media general y parámetros de dispersión, así como por el método de mínimos cuadrados para detectar el efecto del tipo de muestra, del rastro, de la época del año, así como las interacciones. El contenido de Cu en el 79 % de las muestras fue mayor al límite permitido por la Norma Oficial Mexicana (NOM), destacándose el elevado contenido hepático. El contenido de Cu fue mayor en el RVet y durante diciembre a abril ( $P < 0.05$ ). El contenido de Pb presentó gran variación y un elevado porcentaje de las muestras estuvieron arriba de lo señalado en la NOM. El contenido de Cd fue menor a los límites permisibles en la NOM. No se encontró Hg, As, ni DDT y sus metabolitos.

**PALABRAS CLAVE:** Metales pesados, Bioacumulación, Bovinos.

### ABSTRACT

The purpose of this research was to determine copper (Cu), lead (Pb), cadmium (Cd), mercury (Hg), arsenic (As), dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT), and DDT metabolites, in the muscles and organs of cattle slaughtered in Mérida, Yucatan, Mexico, during 13 months. Pectoral muscle, kidney and liver were sampled in the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry Processing Plant (RVet) (n=255), and in Mérida City Municipal Slaughter House (RMun) (n=225), from April 2001 to April 2002. Samples were analyzed using an atomic absorption spectrophotometer provided with hollow cathode lamps and an air-acetylene burner to determine Cu, Pb, and Cd, or by means of the use of cold vapor for Hg, or finally using a hydride generator for As. DDT and DDT metabolites were determined using a gas chromatographer with an electron capture detector. Results were analyzed calculating the general means and dispersion parameters as well as using the least square method to detect the effects of sample type, abattoir and season of the year, as well as all interactions. Cu content in 79 % of all the samples was higher than the limit recommended by Mexican Official Norms (MON's). The quantity was highest in liver samples. Cu levels were higher ( $P < 0.05$ ) in RVet during December to April. A great variability was found in Pb and most of the samples had a quantity higher than the one permitted by the MON's. Cd levels were lower than those allowed by the MON's. No Hg, As, DDT or DDT metabolites were found.

**KEY WORDS:** Heavy metals, Bioaccumulation, Cattle.

Recibido el 9 de agosto de 2005 y aceptado para su publicación el 9 de noviembre de 2006.

<sup>a</sup> Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán. Av. Juárez # 421. Ciudad Industrial. 97288 Mérida, Yuc. México. Tel (999)946.0989 ext 110. cruelas@uady.mx. Correspondencia al segundo autor.

<sup>b</sup> Universidad Mesoamericana San Agustín, Mérida, Yuc.

La detección de metales pesados en los alimentos ha venido cobrando importancia debido a su toxicidad y capacidad de bioacumulación en el organismo. La presencia de estos en los productos de origen animal, es el paso previo al consumo y depósito en el ser humano como último eslabón de la cadena alimenticia.

La contaminación puede iniciar en los alimentos destinados a los animales. El origen probablemente se encuentre en las descargas y emisiones industriales (Zn, Cu, As), el contacto con pinturas (Pb) o con desechos como baterías usadas (Cd), por ingesta accidental (Hg), etc<sup>(1)</sup>. Debido a su impacto en la seguridad alimentaria, en los países desarrollados desde hace algún tiempo se han llevado a cabo investigaciones para detectar y cuantificar estas sustancias<sup>(2,3,4)</sup>. En cambio en México, este tipo de estudios es incipiente.

El Cu es un metal pesado importante en la industria pecuaria de Yucatán, ya que se emplea como promotor del crecimiento de cerdos y aves, así como fungistato en esta última especie. Se ha encontrado que la pollinaza contiene cantidades elevadas<sup>(5)</sup>, y dado que se emplea ampliamente en la alimentación de rumiantes<sup>(6)</sup>, es evidente que representa un importante factor de riesgo de contaminación por Cu en estos animales.

Otro tipo de contaminante bioacumulable en la producción bovina son los plaguicidas, en particular el dicloro difenil tricloroetano o DDT (1,1,1-Tricloro-2,2-bis (p-clorofenil) etano), cuyos residuos se pueden encontrar en los forrajes y alimentos balanceados, los cuales, al consumirse por los rumiantes, se acumularán en el tejido graso y posteriormente pueden ser ingeridos por los humanos<sup>(7)</sup>.

Con base en lo expuesto, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar la presencia de los metales pesados: Cu, Pb, Cd, Hg y As, así como DDT y sus metabolitos, en músculo, órganos y grasa, de bovinos sacrificados en Mérida, Yuc., México, durante un periodo de 13 meses.

#### *Muestreo de canales bovinas*

Se muestreó músculo (M), riñón (R) e hígado (H), de un mismo animal a la vez, en el rastro de la

Heavy metal detection in food is attracting more and more attention due to their toxicity and bioaccumulation potential in the body. The presence of heavy metals in animal-origin foods is a preliminary step before consumption and deposition in humans as the last link in the food chain.

Animal food contamination can be originated from either industrial effluents/emissions (Zn, Cu, As); contact with paint (Pb) or with waste materials such as spent batteries (Cd); there could also be a direct contamination by means of an accidental intake (Hg); etc.<sup>(1)</sup>. In recent years, research has been done in developed countries to detect and quantify these substances<sup>(2,3,4)</sup> due to their impact on food safety. In Mexico this type of studies is only incipient.

Cu is an important heavy metal in Yucatan animal production systems, since it is used as a growth promoter in swine and poultry. In the latter it is also used as a fungistat. High Cu levels have been detected in poultry litter<sup>(5)</sup>. Given that poultry litter is widely used in animal feeding<sup>(6)</sup>, it evidently represents an important Cu contamination risk factor in ruminants.

Pesticides [particularly dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT) (1,1,1-Tricloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethane)] represent one additional type of pollutants with bioaccumulation ability in cattle. DDT residues can be found in forages and feedstuffs when, fed to ruminants, accumulate in the fatty tissue. Humans can be contaminated after eating these animal-origin foods<sup>(7)</sup>.

The objective of this research was to determine the presence of heavy metals (Cu, Pb, Cd, Hg, and As) as well as DDT and DDT metabolites in the muscles, organs, and fat of cattle slaughtered in Mérida City, Yucatan, Mexico, throughout 13 mo.

#### *Cattle carcass sampling*

Muscle, (M), kidney (K), and liver (L) samples were obtained from one single animal at a time in either the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry Processing Plant (RVet), or the Mérida City Municipal Abattoir (RMun). In RVet,

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (RVet) y en el rastro Municipal de Mérida (RMun). Al RVet concurren primordialmente ganaderos especializados en la engorda semiintensiva de bovinos; en cambio en el RMun se sacrifica sobre todo, ganado engordado extensivamente. Todos los animales procedían de predios ubicados en el estado de Yucatán.

Las muestras de M se obtuvieron del pectoral de la canal derecha, las de R del riñón derecho y las de H del lóbulo inferior. El muestreo se llevó a cabo durante 13 meses (abril de 2001 a abril de 2002). Se hicieron visitas semanales a los rastros y se tomaron muestras de animales machos enteros de tipo racial cebuino, así como F1 (cebu x europeo).

El número de muestras a tomar se determinó mediante un premuestreo, hecho con 11 animales, utilizando la variabilidad en el contenido de Cu hepático considerando una confiabilidad del 95 % y un error del 5 %<sup>(8)</sup>. Se calculó el tamaño de muestra en 365. Las muestras se tomaron de 160 animales y en total se colectaron 255 muestras del RVet y 225 del Rmun algunas de las cuales no se analizaron por diversas causas.

De cada muestra se tomaron aproximadamente entre 50 y 100 g, se envasaron en bolsas de polietileno y se etiquetaron individualmente, conservándose en refrigeración. Una vez en el laboratorio se eliminó mecánicamente la grasa del M y el tejido conectivo del R y del H. Se molieron en un procesador de alimentos; en el caso del H, la molienda fue ligera para evitar el sobrecalentamiento del tejido. Posteriormente se deshidrataron en una estufa de convección a 60 °C durante 2 días, con el fin de preservarlas deshidratadas hasta su análisis.

#### *Determinación de minerales y plaguicidas*

La totalidad de las muestras obtenidas fue analizada para cuantificar la presencia de Cu, Pb, Cd, Hg y As. En cuanto al análisis de Hg y As se llevó a cabo sólo en 36 muestras tomadas al azar, de cada uno de los tejidos. Para el análisis, se utilizó la técnica de espectrofotometría de absorción atómica

semi-intensivamente fed cattle are typically processed, but in RMun extensively-grazed cattle are slaughtered. All animals came from operations located in the state of Yucatan. M samples were obtained from the right pectoral muscle, K samples corresponded to the right kidney, and L samples were obtained from the lower liver lobe. Samples were obtained throughout 13 mo, from April 2001 to April 2002. Samples were obtained on a weekly basis from non castrated males of the zebu and F1 (zebu x european) breeds.

The number of samples to be obtained was determined by a pre-sampling process including 11 animals and considering the variability of liver Cu with 95 % confidence and 5 % error<sup>(8)</sup>. Sample size was calculated to be 365. Samples were obtained from 160 animals. A total of 255 samples were collected from RVet and 225 from RMun. Some samples were not analyzed for different reasons.

Approximately 50 to 100 g of each sample were taken, placed in polyethylene bags, and individually labeled, then refrigerated. Once in the laboratory, M fat and K and L connective tissues were mechanically discarded. Samples were then ground using a food processor. In the case of L, grinding was gently practiced in order to avoid tissue overheating. Sample moisture was removed on a convection incubator at 60 °C for 2 d in order to preserve them dehydrated until analyzed.

#### *Mineral/pesticide determinations*

All samples were quantitatively analyzed for Cu, Pb, Cd, Hg, and As. The analysis of Hg and As was performed on only 36 samples taken at random from each tissue type. The analysis was carried out using atomic absorption spectrophotometry with a 3110 model Perkin Elmer spectrophotometer using hollow cathode lamps for each metal. For Cu, Pb, and Cd an air-acetylene burner was used. For the determination of Hg the cold vapor system was practiced. Finally, a hydride generator was used for As analysis<sup>(9)</sup>.

Given that organochlorinated pesticides are mainly deposited in the adipose tissue, M and L fat from

mediante el empleo de un espectrofotómetro marca Perkin Elmer modelo 3110, utilizando lámparas de cátodo hueco para cada metal; para Cu, Pb y Cd con un quemador de aire-acetileno; para la determinación de Hg se empleó el sistema de vapor frío y para As se utilizó un generador de hidruros<sup>(9)</sup>.

Debido a que los plaguicidas organoclorados se depositan principalmente en el tejido adiposo, se extrajo la grasa del M e H de 48 muestras tomadas al azar entre la totalidad de las obtenidas. Los tejidos se deshidrataron y molieron. Posteriormente se extrajo la grasa en dos ocasiones utilizando diclorometano en un sistema marca Tecator modelo Soxtec System HT 1043. La mezcla de solvente-grasa extraída se concentró durante 12 h, utilizando una columna Snyder, hasta obtener un volumen menor a 15 ml aproximadamente. La mezcla concentrada se añadió a una columna cromatográfica empacada con 16 g de florisil malla 60 -100 activada a 600 °C durante 5 h y pasivado con 5 % de agua destilada. La muestra se eluyó utilizando hexano y diclorometano en diferentes cantidades. Primero se emplearon 70 ml de hexano obteniéndose la fracción 1, seguidamente se añadieron 50 ml de hexano - diclorometano 1:1 y se obtuvo la fracción 2, por último se emplearon 40 ml de diclorometano y se obtuvo la fracción 3. Las fracciones se evaporaron utilizando una columna Snyder, hasta obtener un volumen aproximado de 10 ml, el cual se transfirió a un tubo concentrador Kuderna Danish y se evaporó con nitrógeno hasta obtener un volumen de 0.5 ml, mismo que se resuspendió a 1 ml aproximadamente para efectuar su lectura posterior en un cromatógrafo de gases equipado con un detector de captura de electrones marca Perkin Elmer AutoSystem XL. Simultáneamente se procesó una muestra contaminada con 10 ml de un estándar de DDT y su isómero, el dicloro difenil dicloro etileno (o'p'DDE y p'p'DDE) a una concentración de 5,000 mg/ml en metanol) y se analizó de igual forma.

A los resultados obtenidos del contenido de metales pesados se les calculó su media general, así como parámetros de dispersión. Dado que no se apegaron a una distribución normal se volvieron a analizar, transformando los valores a su log N. Se empleó

48 random samples was extracted. Tissue samples were dehydrated and ground. Fat was then extracted twice using dichloromethane on a HT 1043 model Tecator Soxtec System. The solvent-fat mix extracted was concentrated for 12 h using a Snyder's column until a volume of approximately < 15 ml was obtained. The concentrated mix was injected into a chromatographic column packed with 16 g Florisil (Translator's notice: a highly selective adsorbent), 60 - 100 mesh activated at 600 °C for 5 h, and soothed down with 5 % distilled water. The sample was eluted using different amounts of hexane and dichloromethane. Seventy ml hexane were first used in order to obtain fraction 1, followed by the addition of 50 ml 1:1 hexane: dichloromethane to obtain fraction 2. Lastly, 40 ml dichloromethane were added to obtain fraction 3. Fractions were evaporated using a Snyder's column until obtaining a volume of 10 ml, which was transferred to a Kuderna Danish concentrating tube then evaporated with nitrogen until obtaining a volume of 0.5 ml. This last volume was re-suspended to 1 ml then read in a gas chromatographer equipped with a Perkin Elmer AutoSystem XL electron capture detector. Simultaneously, samples spiked with 10 ml of both DDT and DDT isomer (dichloro-diphenyl-dichloro ethylene (o'p'DDE and p'p'DDE) standards at 5,000 mg/ml concentration in methanol) were similarly processed and analyzed.

General mean and dispersion parameters of heavy metal content results were calculated. Given that results did not show a normal distribution, analyzes were repeated transforming the values to their N log. The least square method was used with a fix effect linear model that included the general mean; the effects of sample type (M, K, or L), abattoir (RVet or RMun), and sampling month; sample type x processing plant, sample type x month, processing plant x month, sample type x processing plant x month interactions; and the random error [NiD (0,  $\sigma^2$ )]. Analyzes were performed using the SAS statistical software<sup>(10)</sup> in its Means and GLM routines.

Average content and dispersion parameter results of the metals analyzed with statistically significant effects are only detailed below.

el método de mínimos cuadrados, utilizando un modelo lineal de efectos fijos que incluyó la media general, el efecto del tipo de muestra (M, R e H), del rastro (RVet y RMun) y del mes de muestreo, las interacciones entre tipo de muestra x rastro, tipo de muestra x mes, rastro x mes, tipo de muestra x rastro x mes y el error aleatorio [NiD ( 0,  $\sigma^2$ )]. Los análisis se llevaron a cabo empleando el paquete estadístico SAS<sup>(10)</sup> en sus rutinas Means y GLM.

A continuación sólo se detallan los resultados del contenido promedio y parámetros de dispersión de los metales analizados cuyos efectos estadísticos fueron significativos.

Como era de esperarse, el contenido de 187 ppm de Cu en H, fue mayor en comparación con lo encontrado en M (4.8 ppm) y R (14.6 ppm) ( $P < 0.01$ ) debido a que es el órgano que principalmente lo acumula. En los tres tipos de muestras se encontró una gran dispersión de valores, pero fue más importante en M (Cuadro 1). En todos los casos, el promedio de Cu encontrado fue mayor que la cantidad considerada como límite máximo permitido por la Norma Oficial Mexicana (NOM) – 004 ZOO (1994)<sup>(11)</sup> para carne bovina

Cuadro 1. Contenido de Cu en músculo y órganos de bovinos sacrificados en Mérida, Yucatán, durante los años de 2001 y 2002 (ppm)

Table 1. Cu contents in the muscle and organs of cattle slaughtered in Mérida, Yucatan, during 2001 and 2002 (ppm)

	Muscle	Kidney	Liver
Number of observations	159	158	160
Mean	4.8 <sup>a</sup>	14.6 <sup>b</sup>	187.0 <sup>c</sup>
Standard deviation	4.1	6.2	97.0
Minimum	0.4	2.4	5.8
Maximum	27.4	49.6	450.3
Maximum allowable limit*	2.0	10.0	60.0
Samples exceeding limit, %	79	79	88

\* Mexican Official Norm: Norma oficial mexicana 004 ZOO, 1994.

abc Columns with different superscripts show significant differences ( $P < 0.05$ ).

As expected, the L content of 187 ppm Cu was higher than that in M (4.8 ppm) and K (14.6 ppm) ( $P < 0.01$ ), given that Cu is mainly stored in L. Large dispersion was found in the values of all three sample types, but it was more important in M (Table 1). In all cases, average Cu content was higher than the maximum limit allowed by the Mexican Official Norm (*Norma Oficial Mexicana, NOM – 004 ZOO (1994)*<sup>(11)</sup>, in beef for human consumption (2, 10, and 60 ppm for M, K, and L, respectively). In general, > 78 % samples had a Cu content higher than that established in the above-mentioned *NOM*.

Cu content was higher in RVet samples ( $73 \pm 106$  ppm) than in RMun samples ( $64 \pm 95$  ppm) ( $P < 0.05$ ), probably because animals processed in RVet had been fed poultry litter-containing rations, while RMun animals came from range systems with no or limited supplementation.

Cu content as a function of the month (without considering the processing plant or the tissue of origin) can be found in Table 2. Higher Cu concentrations were found in samples collected in

Cuadro 2. Efecto del mes del año sobre el contenido de Cu en músculo y órganos de bovinos en dos rastros de Mérida, Yucatán (ppm)

Table 2. Effect of sampling month on the average content of Cu in the muscle and organs of cattle slaughtered in two different abattoirs (ppm)

Month	Average	Standard deviation	n
April 2001	63 <sup>d</sup>	100	45
May	64 <sup>d</sup>	88	99
June	50 <sup>e</sup>	71	60
July	70 <sup>c</sup>	106	24
August	73 <sup>c</sup>	108	24
September	61 <sup>d</sup>	79	24
October	62 <sup>d</sup>	77	24
November	60 <sup>d</sup>	83	24
December	82 <sup>b</sup>	115	30
January 2002	91 <sup>a</sup>	129	30
February	82 <sup>b</sup>	125	30
March	82 <sup>b</sup>	113	30
April	97 <sup>a</sup>	140	30

abcde Different superscripts show significant differences ( $P < 0.05$ ).

destinada al consumo humano (2, 10 y 60 ppm para M, R y H respectivamente). En general más de un 78 % de las muestras tuvieron un nivel de Cu superior al establecido en la mencionada NOM.

El contenido de Cu fue mayor en las muestras del RVet (73± 106 ppm) comparado con aquéllas de RMun (64± 95 ppm) ( $P < 0.05$ ), probablemente porque en el primero, los animales sacrificados son alimentados con suplementos conteniendo pollinaza, a diferencia del segundo, en donde la mayor parte de animales que se sacrifican tienen un sistema de alimentación extensivo, a base de pastoreo sin o con muy escasa suplementación.

El contenido de Cu en función del mes (sin distinción de rastro u origen anatómico), se encuentra en el Cuadro 2. Se observó una mayor concentración en las muestras obtenidas en los últimos cinco meses ( $P < 0.05$ ), momento que coincide con el final de la época de nortes (vientos frescos procedentes del norte) y la época de sequía, siendo precisamente esta época en la cual se utiliza la suplementación y confinamiento del ganado, debido a que disminuye la producción forrajera en las praderas. La pollinaza es uno de los insumos más utilizados para este fin.

Se encontró una interacción ( $P < 0.05$ ) en el contenido de Cu en función del rastro. El resultado fue similar en M y R en ambos rastros ( $P > 0.05$ ); en cambio en H el contenido de Cu fue mayor en el RVet (201± 95 ppm) en comparación con RMun (171± 98) ( $P < 0.05$ ).

Otra interacción significativa ( $P < 0.01$ ) se encontró entre el mes de muestreo y el rastro (Cuadro 3). No se observó una tendencia homogénea en el contenido de Cu entre los rastros; los mayores valores en el RVet se obtuvieron en los meses de enero y abril de 2001, en cambio en RMun se observaron en abril de 2002 y en marzo, si bien en ambos casos coinciden con la época de sequía.

Los resultados generales para el Pb se aprecian en el Cuadro 4. No existe diferencia ( $P > 0.05$ ) en el contenido de este metal en los tres tipos de muestras, además de que la variabilidad es muy elevada y

the last five months ( $P < 0.05$ ), consistent with the late north cool wind season and droughts. This is precisely the time when cattle are confined and supplemented, since pasture production decreases in the grasslands. Poultry litter is one of the most popular feedstuffs for this purpose.

Interaction ( $P < 0.05$ ) was found in the Cu content as a function of the slaughter house. The result was similar in M and K samples from both abattoirs ( $P > 0.05$ ), but a higher L Cu content was found in RVet (201± 95 ppm) than in RMun (171± 98) ( $P < 0.05$ ).

One additional significant ( $P < 0.01$ ) interaction was found between the sampling month and the processing plant (Table 3). No consistent trend was found in Cu contents between both processing plants, since higher values in RVet were obtained

Cuadro 3. Contenido promedio de Cu en músculo y órganos de bovinos sacrificados en Mérida, Yucatán, en función del mes de muestreo y el rastro (ppm)\*

Table 3. Average Cu content in the muscle and organs of cattle slaughtered in Mérida, Yucatán, as a function of the sampling month and the processing plant (ppm)\*

Months	Processing plant			
	Veterinary medicine faculty		Municipal abattoir	
	Average	Standard deviation	Average	Standard deviation
April 2001	48 <sup>e</sup>	82	93 <sup>a</sup>	127
May	68 <sup>c</sup>	94	48 <sup>e</sup>	80
June	57 <sup>d</sup>	75	43 <sup>f</sup>	69
July	66 <sup>cd</sup>	95	75 <sup>bc</sup>	120
August	92 <sup>b</sup>	131	54 <sup>e</sup>	81
September	57 <sup>d</sup>	88	65 <sup>d</sup>	73
October	72 <sup>c</sup>	96	52 <sup>e</sup>	56
November	57 <sup>d</sup>	78	64 <sup>d</sup>	92
December	90 <sup>b</sup>	130	73 <sup>c</sup>	100
January 2002	114 <sup>a</sup>	159	69 <sup>c</sup>	91
February	85 <sup>b</sup>	127	80 <sup>b</sup>	128
March	82 <sup>b</sup>	115	83 <sup>ab</sup>	116
April	115 <sup>a</sup>	155	79 <sup>b</sup>	125

\* Sampling month-processing plant interaction ( $P < 0.01$ ).

abcde Different superscripts in one same column show significant differences ( $P < 0.05$ ).

similar entre ellas. Hubo desde muestras que no lo contenían, hasta otras que tenían una cantidad notoriamente mayor a los límites permisibles por la NOM – 004 ZOO (1994)<sup>(11)</sup>, sobre todo en M y R. Un elevado porcentaje de las muestras, que osciló del 40 % (H) hasta el 88 % (M) estuvo arriba del límite máximo tolerable por esta Norma.

Sólo se encontró un efecto significativo en el contenido de Pb atribuible al mes de muestreo (Cuadro 5) ( $P < 0.01$ ). Por lo que respecta a los meses de enero 2002 a abril de 2002, el promedio del contenido de Pb está por debajo de los límites estipulados en la NOM<sup>(11)</sup>, para cualquier tipo de muestra; en los meses de junio, septiembre y diciembre, se encuentra ligeramente por arriba de lo permisible para el M, pero inferior a lo permisible tanto para el R como el H. En el resto de los meses muestreados el contenido total de Pb encontrado está por arriba de 2 ppm, que es la mayor cantidad permisible para el R como el H y obviamente también para M.

En el Cuadro 6, se pueden apreciar los resultados generales para el Cd, siendo todos estos menores a los permisibles por la NOM<sup>(11)</sup>. El contenido de Cd, fue similar en todas las muestras recolectadas.

Cuadro 4. Contenido de Pb en músculo y órganos de bovinos sacrificados en Mérida, Yucatán, durante los años de 2001 y 2002 (ppm)

Table 4. Pb contents in the muscle and organs of cattle slaughtered in Merida, Yucatan, during 2001 and 2002 (ppm)

	Muscle	Kidney	Liver
Number of observations	155	155	155
Mean	1.6	1.7	1.4
Standard deviation	1.9	1.8	1.8
Minimum	0.0	0.0	0.0
Maximum	6.8	8.9	10.7
Maximum allowed limit*	0.5	2.0	2.0
Samples exceeding limit, %	88	68	40

\* Mexican Official Norm: Norma oficial mexicana 004 ZOO, 1994

in the months of January and April 2001, while in RMun higher values were obtained in April 2002 and March. Both cases match the dry season.

Table 4 shows general Pb results. There is no difference ( $P > 0.05$ ) in the Pb content in all three sample types. Variability is extremely high in all 3 sample types. Results ranged from samples with no Pb to those with levels remarkably higher than those allowed by NOM – 004 ZOO (1994)<sup>(11)</sup>, particularly in both M and K. A high percentage of samples, from 40 % (L) to 88 % (M) exceeded the maximum NOM-allowed Pb levels.

Only a significant effect was found in Pb content attributable to sampling month (Table 5) ( $P < 0.01$ ). As far as the period between January to April 2002 is concerned, the average Pb content is lower than the limits established by the NOM<sup>(11)</sup>, in any sample types. In June, September, and December, Pb levels were slightly higher than those allowed for M, but lower than those allowed for both K and L. In all

Cuadro 5. Efecto del mes del año sobre el contenido de Pb en músculo y órganos de bovinos en dos rastros de Mérida, Yucatán, (ppm)

Table 5. Effect of the sampling month on the average Pb contents in the muscle and organs of cattle slaughtered in two different abattoirs (ppm)

Months	Average	Standard deviation	n
April 2001	2.5 <sup>a</sup>	2.0	45
May	2.7 <sup>a</sup>	2.0	105
June	0.9 <sup>c</sup>	1.1	45
July	2.5 <sup>a</sup>	1.9	24
August	2.1 <sup>b</sup>	1.2	24
September	0.6 <sup>c</sup>	0.9	24
October	2.4 <sup>a</sup>	1.0	24
November	2.4 <sup>a</sup>	1.2	24
December	0.7 <sup>c</sup>	0.9	30
January 2002	0.1 <sup>d</sup>	0.2	30
February	0.0 <sup>d</sup>	0.0	30
March	0.1 <sup>d</sup>	0.3	30
April	0.0 <sup>d</sup>	0.0	30

abcd Different superscripts show significant differences ( $P < 0.05$ ).

Por lo que respecta al Hg y As, en ninguna de las muestras analizadas se encontró la presencia de estos metales, hecho favorable ya que ambos son considerados muy tóxicos. En ninguna muestra se observó presencia de DDT y sus metabolitos.

El elevado contenido de Cu encontrado en las canales bovinas de este trabajo, coincide con datos reportados por otros autores<sup>(12)</sup>, quienes analizaron carne bovina molida comercializada en supermercados en la misma ciudad. Es muy posible que este contenido tenga su origen en la elevada presencia de este metal en la pollinaza utilizada en la zona<sup>(6)</sup>, ya que como se puntualizó, fue mayor el Cu en animales sacrificados en época de nortes-sequía, que es en cuando más se emplea este insumo. En otros países como España, también se han encontrado niveles elevados de este metal en tejidos bovinos, sin que hayan podido determinar el origen de dicha contaminación<sup>(13)</sup>.

Desde el punto de vista de fisiología animal, comparando el contenido máximo de Cu en H encontrado (450 ppm) con el nivel considerado normal en rumiantes comprendido entre 100 y 300 ppm<sup>(9)</sup>, es evidente que en algunos animales el contenido cúprico era muy elevado. Los bovinos toleran cantidades de Cu en su alimento de hasta 100 ppm<sup>(14)</sup>, pero cuando se presenta un exceso en la dieta, éste se almacena en el hígado. En un momento de estrés, es liberado produciendo un estado de ictericia y debilidad. La orina adquiere un tono café, debido a la presencia de hemoglobina liberada por la destrucción de eritrocitos. La muerte sobreviene entre uno y cuatro días después de presentados los primeros signos<sup>(15)</sup>. Numerosos casos de intoxicación por Cu en bovinos y ovinos han sido diagnosticados en Yucatán<sup>(16,17)</sup>.

Las recomendaciones nutricionales para el consumo de Cu en humanos oscilan entre 1.5 y 3 mg/día dependiendo del individuo<sup>(18)</sup>. Disponiendo de un hígado de bovino destinado al consumo humano, que contuviera 75 ppm Cu (base seca), todo el requerimiento de Cu del individuo podría ser cubierto mediante la ingestión de sólo 40 g de este hígado (en base seca). El promedio encontrado en H en este trabajo fue de 187 ppm. Es evidente que

other monthly samples, total Pb contents were in excess of 2 ppm, which is the maximum allowed level for K, L, and obviously M.

Table 6, shows general Cd results, all of which are lower than the NOM-allowed levels<sup>(11)</sup>. Cd content was similar in all samples collected. No Hg or As were detected in any of the samples analyzed. This is appropriated, since both Hg and As are considered as highly toxic metals. No DDT or DDT metabolites were detected in any of the samples.

The high Cu content found in the cattle carcasses analyzed in this research is in agreement with data published by other authors<sup>(12)</sup>, where ground beef sold in Mérida supermarkets was analyzed. This is probably due to the high levels of Cu found in regions' broiler litter<sup>(6)</sup> since, as stated above, Cu levels were higher in animals processed during the north cool windy/dry season, when poultry litter is mostly fed. In other countries like Spain, high Cu levels have also been found in cattle tissues, but the origin of such contamination has not been determined<sup>(13)</sup>.

From the animal physiology stand point, a comparison of the peak L Cu level found (450 ppm) in this study with that considered as normal

Cuadro 6. Contenido de Cd en músculo y órganos de bovinos sacrificados en Mérida, Yucatán, durante los años de 2001 y 2002 (ppm)

Table 6. Cd contents in the muscle and organs of cattle slaughtered in Mérida, Yucatan, during 2001 and 2002 (ppm)

Tissue	Muscle	Kidney	Liver
Number of observations	160	160	160
Mean	0.03	0.05	0.04
Standard deviation	0.08	0.08	0.08
Minimum	0.00	0.00	0.00
Maximum	0.47	0.41	0.65
Maximum allowed limit*	2.00	5.00	10.00
Samples exceeding limit, %	0	0	0

\* Mexican Official Norm: Norma oficial mexicana 004 ZOO, 1994.



un contenido elevado de Cu en este órgano puede tener una repercusión en la alimentación humana, pudiendo sufrir intoxicaciones por bioacumulación al ingerir altas concentraciones de este metal.

No fue posible asociar la elevada presencia de Pb en las muestras con ninguna circunstancia obvia del sistema de producción. Fuentes de contaminación posibles serían: ingestión de las pinturas que recubren los corrales y mangas de manejo; consumo de forrajes con afinidad a este metal, como pudiera ser la planta Diente de león (*Taraxacum officinale*); contaminación aérea de las áreas de pastoreo con residuos de combustible o con emisiones industriales<sup>(19)</sup>. Dado que hubo casos en los cuales no se detectó este metal, ello indica que el problema está localizado sólo en algunas zonas y no está generalizado, como el caso del Cu. Trabajos futuros deberán estar enfocados en la búsqueda del origen de la contaminación.

La detección de las cantidades excesivas de Pb observadas en este trabajo es importante, ya que se ha diagnosticado la bioacumulación de este metal en población infantil en México<sup>(20)</sup>.

La bioacumulación de Pb junto con Cu, se asocian a problemas de hipertensión arterial y a neuropatías en humanos<sup>(19)</sup>. Coincidentemente, el estado de Yucatán ocupa el sexto y el noveno lugar nacional en mortalidad atribuible a la enfermedad isquémica del corazón en hombres y mujeres respectivamente<sup>(21)</sup>. De igual manera, la prevalencia de litiasis en Yucatán es entre 10 y 100 veces más alta que el resto del país<sup>(22)</sup>. Por lo tanto es posible que la presencia de residuos de estos metales esté contribuyendo con esta problemática, a nivel regional.

El bajo nivel de Cd encontrado en este trabajo, junto con la ausencia de Hg y As, permiten descartar a estos metales pesados como posible riesgo para la población humana que consume estos productos en la zona de estudio. No es posible comparar estos resultados con otros en la literatura científica de México, debido a la ausencia de información.

El hecho de no encontrar presencia de DDT en las muestras analizadas fue sorprendente, ya que México, junto con China y la India, son los únicos

in ruminants 100 to 300 ppm<sup>(9)</sup>, shows that some animals had extremely high Cu contents. Generally, cattle tolerate up to 100 ppm Cu in the feed<sup>(14)</sup>, but when excess dietary Cu levels exist, this metal is stored in the liver. In the face of stress, Cu is released resulting in jaundice and weakness, with brown urine due to the presence of hemoglobin released as a result of red blood cell destruction. Death occurs 1 to 4 d after the first signs appear<sup>(15)</sup>. Several Cu toxicity cases in cattle and sheep have been diagnosed in Yucatan<sup>(16,17)</sup>.

Nutritional recommendations for humans are 1.5 to 3 mg Cu/d, depending on the individual<sup>(18)</sup>. If a cattle liver for human consumption containing 75 ppm Cu (dry basis) were used, all individual's Cu requirements could be met by eating only 40 g of such liver (dry basis). Average L Cu level found in this research was 187 ppm. Evidently, high L Cu contents can have a repercussion on human feeding that can result in bioaccumulation toxicity after eating foods with high concentrations of this metal.

It was not possible to correlate the presence of Pb in the samples with any obvious circumstances in the production system. Potential contamination sources could include licking the paint used on fences and gangways, intake of Pb-binding forages (i.e. *dent de lion*, *Taraxacum officinale*), or grazing area air pollution with fuel residues or industrial emissions<sup>(19)</sup>. Given that in some cases no Pb was detected, it can be concluded that the problem is not generalized, but localized only in some zones, similar to the Cu situation. Future research should focus towards searching the origin of this contamination. The detection of excess Pb levels observed in this research is important since Pb bioaccumulation has been diagnosed in children in Mexico<sup>(20)</sup>.

Pb/Cu combination bioaccumulation is associated with arterial hypertension and neuropathy in humans<sup>(19)</sup>. Accordingly, the state of Yucatan has positions numbers 6 and 9 nationwide in terms of mortality attributable to heart ischemic disease in men and women, respectively<sup>(21)</sup>. Similarly, the prevalence of lithiasis in Yucatan is 10 to 100 times higher than in the remainder of the country<sup>(22)</sup>. Therefore, it is possible that the presence of residues

productores de DDT a nivel mundial. Seguramente que debido a lo anterior, se han reportado la presencia de compuestos organoclorados en la población humana, tanto en sangre<sup>(23)</sup>, como en tejido adiposo<sup>(24)</sup>. El origen de la presencia de plaguicidas no fue determinado por los autores anteriores, sin embargo, ellos sospechan del uso doméstico que se da a estos productos, sin descartar la ingestión a través de los alimentos.

Se concluye que más de un 78 % de las muestras analizadas tuvieron un contenido de Cu superior a la cantidad máxima permitida. Los niveles más elevados se encontraron durante la época de diciembre a abril que coincide con la sequía. Es posible que estos niveles elevados sean atribuibles a un consumo de pollinaza mal planificado. El contenido promedio de Pb en los tres tipos de muestra analizados presentó una variación significativa, ya que hubieron algunas que sobrepasaron los límites máximos permisibles hasta cinco veces, mientras que en otras no se detectó. Las cantidades promedio de Cd encontradas en cada unas de las muestra analizadas, fue mucho menor a los límites máximos permisibles. El contenido de As y Hg, no fue detectable y tampoco el de DDT, ni sus metabolitos.

Las importantes repercusiones que los resultados de este trabajo pueden tener sobre la salud humana, amerita la aplicación de medidas correctivas inmediatas: A) Difundir estos resultados ante los grupos ganaderos con la finalidad de hacerles saber del problema e incorporarlos en la búsqueda de soluciones; B) Medir el impacto que el consumo de estos productos cárnicos ha podido tener en la salud humana de la población del estado de Yucatán, dado que los grupos que pudieron haber estado afectados por consumir carne con elevado contenido en Cu y Pb pudieron haber desarrollado urolitiasis, o hipertensión.

## AGRADECIMIENTOS

Se reconoce el apoyo financiero de la Fundación Produce Yucatán A.C. a la realización de esta investigación mediante el proyecto titulado

of these metals is contributing to this problem in Yucatan.

The low level of Cd found in this research, together with the absence of Hg and As, allow us to discard these heavy metals as possible risk factors for human populations eating these bovine-origin products in the zone studied. No other Mexican scientific publications on this matter were found, so it was not possible to compare our results with other data.

Not finding DDT in the samples analyzed was surprising given that Mexico, China, and India are the only DDT producers in the world. Unquestionably, for this reason the presence of organochlorinated compounds has been reported in human blood<sup>(23)</sup>, and adipose tissue<sup>(24)</sup>. The origin of pesticide contamination was not determined in previous publications, even though the household use of these pesticides was suspected, and food contamination was not ruled out.

It is concluded that > 78 % of the samples analyzed had a Cu content higher than the maximum recommended dietary allowance. The highest levels were found between December and April, which corresponds to the dry season. These levels can possibly be attributed to a poorly planned litter manure supplementation in cattle. The content of Pb in all three sample types showed significant variation, since some samples exceeded (5X) the maximum levels allowed by the *NOM*, while in other samples this metal was not detected whatsoever. The average Cd levels found in each of the samples analyzed were much lower than the maximum allowed levels. No As, Hg, DDT, or DDT metabolites were detected.

The important repercussions that the results of this research can have on human health deserve the immediate application of corrective measures, i.e.: A) Sharing these results with cattle producer groups for their awareness, including them in the search of solutions; B) Measuring the impact that the intake of these cattle products can possibly have had in the Yucatan human population health, given that those who have eaten beef containing high Cu/Pb levels could have already developed urolithiasis or hypertension.

“Cuantificación de metales pesados, plaguicidas y clenbuterol en carne bovina en Yucatán”, clave 0801. A las autoridades del Rastro Municipal de Mérida, así como también a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UADY, por todas las facilidades otorgadas para la recolección de muestras.

## LITERATURA CITADA

1. Concon JM. Food toxicology. Part B: Contaminants and additives. New York: Marcel Dekker Inc; 1988:1033–1173.
2. Solly SRB, Revfein KJA, Finch GD. Concentration of cadmium, copper, selenium, zinc and lead in tissues of cattle, pigs and sheep. N Z J Sci 1981;24(1):81-87.
3. Spierenburg ThJ, De Graaf GJ, Baars AJ, Brus DHJ. Cadmium, zinc, lead and copper in livers and kidneys of cattle in the neighbourhood of zinc refineries. Environ Monitoring Assessment 1988;11(2):107-114.
4. Niemi A, Venäläinen ER, Hirvi T, Hirn J, Karppanen E. The lead, cadmium, mercury and lead concentrations in muscle, liver and kidney from finish pigs and cattle during 1987-1988. European Food Res Tech 1991;192(5):427-429.
5. Pacheco AJA, Rosciano GJL, Villegas CWA, Alcocer VVM, Castellanos RAF. Cuantificación del contenido de cobre y otros minerales en pollinazas producidas en el estado de Yucatán. Téc Pecú Méx 2003;41(2):197-207.
6. Castellanos RAF, G. Cantón CJ, Murguía OML, Moguel OYB. La pollinaza como alimento para rumiantes. Desplegable para Productores. INIFAP Produce. Mérida, Yuc. 1999.
7. Repetto M. Toxicología fundamental. 3ª ed. Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos; 1997.
8. Segura J, Honhold N. Métodos de muestreo para la producción y la salud animal. 1ª ed. Mérida, Yuc., México: Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán; 2000.
9. Fick KR, Mc Dowell LR, Miles PH, Wilkinson MS, Kunk JD, Conrad JH. Métodos de análisis de minerales para tejidos de plantas y animales. Gainesville. Departamento de Ciencia Animal. Universidad de Florida. Gainesville, Fla. USA. 1979.
10. SAS. SAS/STAT. User's Guide: Statistics (version 6.03) Cary, NC, USA. SAS Inst. Inc. 1988.
11. NOM (Norma Oficial Mexicana) 004-ZOO-1994. Grasa, hígado, músculo y riñón en aves, bovinos, caprinos, cérvidos, equinos, ovinos, y porcinos. Residuos tóxicos. Límites máximos permisibles y procedimientos de muestreo. Modificación de la Norma Oficial Mexicana.
12. Grajales LA, Yam CM, Toledo LV, Rivas RI, Abud AM. (2004). Determination of heavy metals (As, Cd, Cu, Pb and Zn) in bovine meat. IFT Ann Meet. Las Vegas, USA. 2004:49G-9.
13. López AM, Benedicto JL, Miranda M, Castillo C, Hernández J, Shore RF. Toxic and trace elements in liver, kidney and meat from cattle slaughtered in Galicia (NW Spain). Food Addit Cont 2000;17(6):447-457.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Financial support by Fundación Produce Yucatán A.C. for performing this research through their project entitled “Quantification of heavy metals, pesticides and clenbuterol in beef in Yucatan” code 0801 is acknowledged. Gratitude is also expressed to the authorities of Mérida’s Municipal Abattoir as well as to the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry, Autonomous University of Yucatan (UADY) for having facilitated sample collection.

*End of english version*

- 
14. NRC. National Research Council. The nutrient requirements of beef cattle. Seventh revised ed. Washington, DC, USA: National Academy Press; 1996.
  15. Blood DC, Radostits OM, Henderson JA. Enfermedades causadas por agentes químicos. Medicina veterinaria. Sexta ed. México. DF: Editorial Interamericana; 1987.
  16. G Cantón CJ, Moguel OYB, Rojas RO, Sauri DE Miranda SJ, Castellanos RA. Estimación del daño inducido por el cobre de la pollinaza empleada en la alimentación de ovinos. Téc Pecú Méx 1994;32(2):82–89.
  17. Murguía OML, Rojas RO, Bores QR. Estudio retrospectivo de casos de intoxicación por cobre en ovinos [Resumen]. XXXV Reunión de Investigación Pecuaría. Mérida, Yucatán. 1999:62.
  18. RDA. Recommended Dietary Allowances. Washington, DC, USA: National Academy Press; 1989.
  19. Rubio C, Gutiérrez AJ, Martín IRE, Revert C, Lozano G, Hardisson A. El plomo como contaminante alimentario. Rev Toxicol 2004;21:72-80.
  20. Kordas K, López P, Rosado JL, García VG, Alatorre RJ, Ronquillo D, Cebrián M. Blood lead, anemia and short stature are independently associated with cognitive performance in Mexican school children. J Nutr 2004;134:363-371.
  21. INEGI. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Dirección General de Información de Salud. Estadísticas de mortalidad en México; 2003.
  22. Medina EM, Zaidi M, Real QE. Prevalencia y factores de riesgo en Yucatán, México, para litiasis urinaria. Salud Pub Méx 2002;44(6):541-545.
  23. González AA, Redetzke KA, Applegate HG. DDT type compounds in blood of persons from Ciudad Juárez, México. J Environ Health 1985;47(4):189–191.
  24. Waliszewski SM, Pardío SVT, Infanzón RM, Rivera J. Determination of organochlorine pesticides residues in human adipose tissues. Bulletin Environ Contamination Toxicol 1995;55:43–49.

