

DIOXINAS

¿Un nuevo reto para la industria de Alimentos?

Nelson Montoya., MSc.
Director Técnico, PROGECA-BIOTERIO (Facultad de Ciencias Químicas,)
Gerente General UBA ANALYTICAL LABORATORIES

¿QUÉ SON LAS DIOXINAS?

Las Dioxinas son un grupo de sustancias químicas. Todas ellas caracterizadas por ser compuestos aromáticos policlorados, incoloros e inodoros, con estructuras y propiedades químicas y físicas similares. Estos compuestos no son producidos intencional o deliberadamente por el hombre, pero son formados como productos de desechos en diferente procesos químicos.

Las Dioxinas de manera natural están presentes en erupciones volcánicas y fuegos forestales, pero su origen de mayor preocupación corresponde a su formación dentro de procesos antropogénicos como la incineración de residuos urbanos, fabricación de papel, herbicidas y defoliantes, producción de metales a alta temperatura, fabricación de PVC, etc.

Aunque formalmente Dioxinas es el nombre aplicado a un grupo de 210 compuestos orgánicos policlorados-dibenzodioxinas policloradas (PCDD's) y dibenzofuranos policlorados(PCDF's)-, de este grupo solo 17 compuestos son de interés y preocupación toxicológica. Siendo el 2, 3, 7, 8-tetraclorodibenzo-p-dioxina, abreviado como 2, 3, 7, 8-TCDD el mas estudiado de estos compuestos,

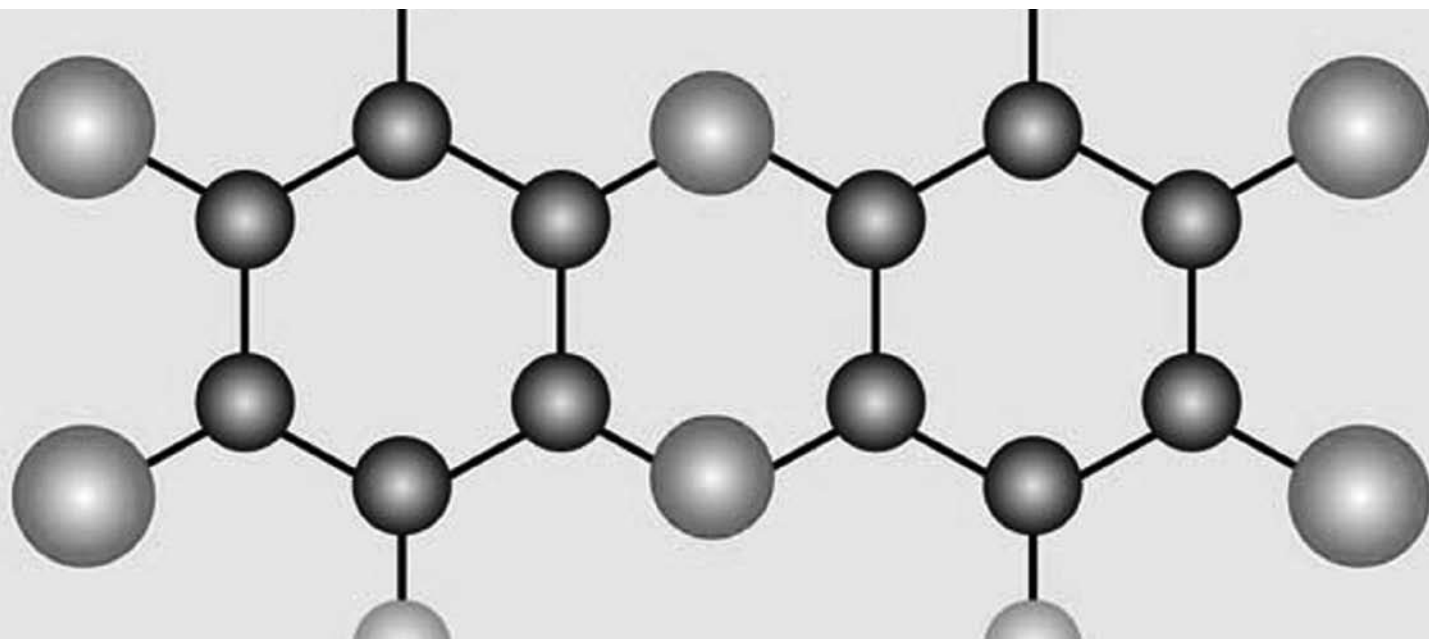
por su mayor toxicidad y carcinogenicidad reconocidas por la organización mundial de la salud (OMS). Su determinación se realiza en partes por trillón.

En este grupo también se incluyen a ciertos compuestos de la familia de los bifenilos policlorados (PCB's), inclusión que se realiza en base a la similitud de propiedades de estos compuestos con las dioxinas, de allí su denominación "PCB's similares a dioxinas".

TOXICIDAD

La mayoría de estudios sobre la toxicidad del grupo muestran resultados poco concluyentes. Esta ambigüedad en los resultados es explicada como consecuencia de la imposibilidad de emular en experimentos sobre humanos, los resultados obtenidos en pruebas sobre animales de laboratorio -incluidos mamíferos-. Diferencias entre sus metabolismos se traducen en desiguales comportamientos ante la agresión de estas sustancias. Por tanto, los datos más fiables referidos a los efectos de las Dioxinas sobre la salud humana son los obtenidos tras algún accidente químico como los de Seveso, Bhopal, guerra de Vietnam, Yhuso o Yu-Cheng.





Para normalizar los resultados y evitar las diferencias en toxicidad de los distintos isómeros, la OMS ha definido el concepto de Factor de Equivalencia Tóxica (por sus siglas en inglés, TEQ), que consiste en asignar para cada isómero una toxicidad relativa en términos de la cantidad equivalente de la dioxina 2, 3, 7, 8-TCDD (TEQ = 1). La utilidad del término TEQ consiste en expresar el resultado de un análisis de Dioxinas con un valor numérico que representa la toxicidad de una mezcla compleja de Dioxinas y furanos.

A pesar de esta normalización, no es posible tomar estrictamente como modelos las pruebas de laboratorio sobre animales. Los ratones y ratas, por poner referentes de uso habitual en pruebas toxicológicas, concentran la casi totalidad de estas sustancias en el hígado, y sólo en pequeñas cantidades en las grasas corporales, en tanto que los humanos demuestran exactamente lo contrario. Entre otras consecuencias, esto supone que la vida media de estos compuestos en los humanos es de 5,1 a 11,3 años, mientras que en los ratones es de sólo unas 3 semanas.

Los factores enunciados, explican la ambigüedad para establecer de modo selectivo la toxicidad de una sustancia dentro del grupo. A pesar de este

hecho, el grupo de las dioxinas es conocido por poseer un amplio efecto tóxico, siendo algunas de ellas clasificadas como carcinogénicas a nivel humano. Así, la 2, 3, 7, 8-TCDD es considerada por la International Agency for Research on Cancer como sustancia carcinogénica Clase 1, es decir, de toxicidad demostrada para el hombre.

DIOXINAS EN ALIMENTOS

Las Dioxinas son solubles en grasas y aceites, lo que las predispone a permanecer por tiempo prolongado en las grasas corporales. Esta característica, junto con la alta estabilidad (baja biodegradación) demostrada por la molécula, predispone a un aumento de los niveles de concentración en los organismos, a medida que transcurre dentro de la cadena trófica (bioacumulación).

Las Dioxinas son relativamente sensibles a las radiaciones ultravioletas puras o a la luz solar y además sufren degradación fotoquímica, en cambio son muy insolubles en agua pura, aunque no tanto en aguas naturales o residuales. Por ejemplo, en cada litro de agua pura sólo se consiguen disolver 19 g. de la Dioxina de referencia (2, 3, 7, 8-TCDD's).

Las características anotadas son las que determinan que una vez liberadas en el ambiente, por aire o agua, las Dioxinas incrementen fácilmente su presencia en el tejido graso de animales y humanos. Estudios recientes demuestran que los alimentos de origen animal constituyen el 80% de la exposición total de los humanos a las dioxinas. La contaminación puede variar ampliamente dependiendo del origen de los productos alimenticios. Carnes, huevos, leche, y productos acuícolas podrían estar contaminados con niveles superiores a los permitidos para Dioxinas. En 1997, un estudio de monitoreo realizado en productos de origen marino establece que el aceite de hígado de pescado presentaba niveles de dioxinas superiores a los obtenidos a partir del cuerpo de la misma especie.

Reportes recientes de la UE determinan, que el consumo de pescado contribuye de forma significativa en la ingesta total de Dioxinas.

RESIDUOS DE DIOXINAS EN ALIMENTOS: REGULACIÓN EUROPEA

En 1998, varios estados miembros de la Unión Europea (UE) detectan niveles elevados de Dioxinas en gránulos de pulpa de cítricos procedentes de Brasil, materia prima destinada a la fabricación de alimentos para animales. Como consecuencias de este hallazgo la comisión europea adopta la Directiva 98/60/CE, en la que se establece el límite máximo residual (LMR) de dioxinas permitido en pulpa de cítricos (500 pg-TEQ/kg)

Al año siguiente, la crisis de las dioxinas en Bélgica, originada como consecuencia del escándalo alimentario de los pollos y gallinas belgas contaminados por dioxinas al ingerir piensos elaborados con aceites, que contenían fluidos de refrigeración de transformadores eléctricos, puso en alerta a toda Europa con las consecuentes reglamentaciones (Decisión 1999/449/CE).

Los incidentes mencionados conllevan finalmente al establecimiento de la legislación que limita y controla la presencia de dioxinas y PCB's en piensos y alimentos dentro de la UE. Esto es, el Reglamento (CE) No 2375/2001 del Consejo. Reglamento que se aplica a partir del 1 de julio de 2002 y establece los LMR de dioxinas (expresados en equivalentes tóxicos de la OMS).

Actualmente, la normativa europea se hace cada vez más estricta e intolerante con estos productos órganoclorados. Por citar un ejemplo, hasta mayo de 1998 se aceptaba una dosis de ingesta diaria de hasta 10 pg TEQ (OMS)/Kg. peso/día como tolerada. Hoy en día, esta cifra ha disminuido, como obligatoria, a un máximo de 4 pg TEQ(OMS)/Kg. peso/día.

Al momento, la Unión Europea es la primera autoridad mundial en establecer LMR para las concentraciones de Dioxinas y de "PCB's similares a las Dioxinas". Estos límites han sido fijados en diversos puntos de la cadena alimentaria, incluyendo los piensos y sus ingredientes y tienen como objetivo reducir la exposición actual de los consumidores hasta niveles aceptables.

CONTENIDOS MÁXIMOS PROPUESTOS DE DIOXINAS*	
Alimentos para animales	Límite (ng TEQ PCDD/F OMS/Kg)
Todas las materias primas de origen vegetal, incluidos los aceites vegetales y los subproductos	0,75
Minerales	1,00
Aceites de pescado	6,00
Pescados, otros animales marinos, sus productos y subproductos, excepto el aceite de pescado	1,25
Piensos para peces	2,25

CONTENIDOS MÁXIMOS PROPUESTOS DE DIOXINAS*	
Alimentos para consumo humano	Límite (pg TEQ/g)
Pescados y productos de la pesca (peso fresco)	4
Aceite de pescado para consumo humano	2

**Estos límites rigen a partir de julio de 2002.*

MÉTODOS DE ANÁLISIS

El análisis de Dioxinas requiere de métodos altamente sofisticados. Estos métodos son viables en un número limitado de laboratorios a nivel mundial, existiendo alrededor de 100 laboratorios acreditados para analizar muestras ambientales de dioxinas (cenizas, aire, tierras o agua) y un número inferior (20) en muestras de alimentos y materiales biológicos. Todos estos laboratorios se encuentran, en su mayoría, en los países industrializados.

Los costos de los análisis varían de acuerdo a la muestra, pero el rango va desde USA \$ 1.200 para análisis de muestras biológicas simples hasta USA \$ 10.000 o más para informes completos de composición de desechos de incineradores.

Debido a su gran sensibilidad y selectividad la técnica de referencia utilizada para la determinación de dioxinas tanto en el campo medio-ambiental como en el análisis de alimentos, ha sido la Cromatografía de Gases/ Espectrometría de masas de alta resolución (GC/HRMS, por sus siglas en Ingles). Para realizar este tipo de determinaciones es necesario controlar los procesos de extracción y recuperación, así como, facilitar la identificación de los diferentes isómeros, mediante el empleo de patrones internos de los compuestos a utilizar con marcaje isotópico.

Debido a la complejidad de la técnica GC/HRMS y a su elevado costo, tanto por la inversión en instrumentación como en personal especializado, hasta el momento este método, solo se puede

llevar a cabo en Centros de Investigación de cierta envergadura. Por ello, existe ya desde hace tiempo una fuerte demanda de métodos y alternativas económicas que permitan la determinación de dioxinas en laboratorios de control de calidad de forma rutinaria. Entre las alternativas disponibles se mencionan:

a) Método de monitoreo: DR-CALUX (Sistemas de Bio Detección)

El bioensayo CALUX es ya de uso habitual en Europa, los EEUU, el Japón, Iberoamérica y en el Sudeste asiático. Emplea células sensibles a las dioxinas, células en las que ha sido insertado el gen que produce luminiscencia en las luciérnagas. En presencia de dioxinas, o de “compuestos similares a las dioxinas”, las células producen luz, la misma que es detectada por un sensor (fotómetro). Esta prueba se realiza sobre placas, permitiendo analizar simultáneamente un gran número de muestras.

Previa validación, cualquier tipo de ingrediente, pienso o alimento puede ser analizado, incluyendo: tejidos (músculo, hígado, grasa, peces enteros, etc.), piensos compuesto, aceites y grasas (aceite de pescado, aceites vegetales, grasas animales, etc.)

b) Cromatografía:

1) La cromatografía de gases/ espectrometría de masas tandem (CG/MS/MS)

La técnica MS/MS genera un proceso de elevada selectividad, permitiendo la obtención de espectros MS/MS característicos de la molécula de interés, y la práctica eliminación de interferencias presentes en la muestra.

Es importante hacer notar que el mismo tipo de espectro tomado a la muestra bajo

Al momento, la Unión Europea es la primera autoridad mundial en establecer LMR para las concentraciones de Dioxinas y de “PCB’s similares a las Dioxinas”.

las condiciones de una cromatografía de gases (GC-MS), resulta muy difícil, pues las altas temperaturas necesarias para volatilizar la muestra, altera los resultados, de hecho se registra inestabilidad posiblemente por descomposición. Para estos casos, en acuerdo a investigaciones previas, resulta muy útil la protección del grupo -OH con Anhídrido Acético o con trimetilsilano (-Si(CH₃)), bajo esta forma los productos resultantes son muy estables al ser analizados por GC-MS, y el análisis de los espectros de masas ayuda a definir la masa molecular de las estructuras originales.

2) Sistema múltiple GCxGC

Esta técnica se encuentra en desarrollo, y es de gran utilidad por su robustez y bajo costo, comparado con los métodos instrumentales mencionados, en el análisis de mezclas complejas de Dioxinas. El método puede ser fácilmente acoplado a un sistema micro-ECD (Detector de captura de electrones). Su acoplamiento con detectores de baja resolución de masas (LRMS) resulta inoperante debido a la velocidad de respuesta de este tipo de detectores, la cual normalmente, es demasiado baja para permitir una buena integración de los picos encontrados. En forma alternativa, el acoplamiento con sistemas Time-of-Flight (ToF)MS puede ofrecer alternativas viables de análisis para estos compuestos.