RIKILT
INSTITUTE OF FOOD SAFETY
WAGENINGEN UR

November 2008

Achtergrond informatie

Dioxinen en Polychloorbifenylen (PCB's)

Inleiding

Dioxinen is een verzamelnaam voor twee subgroepen van gechloreerde tricyclische aromatische componenten welke overeenkomstige chemische, fysische en biologische eigenschappen bezitten. Het betreft de polychloordibenzo-p-dioxinen (PCDD's) en de polychloor-dibenzofuranen (PCDF's). Het totaal aantal chlooratomen kan variëren van 1 tot 8, waardoor er 75 PCDD congeneren en 135 PCDF congeneren mogelijk zijn. Dioxinen hebben geen technische toepassing en worden derhalve dan ook niet opzettelijk gemaakt (m.u.v. wetenschappelijk onderzoek).
Dioxinen kunnen gevormd worden bij allerlei verbrandingsprocessen onder andere vuilverbranding (AVI's), kabelbranderijenen etc.

Verder is de aanwezigheid van PCDD/F's aangetoond in verschillende bestrijdingsmiddelen onder andere in 2,4,5-T; 2,4-D; pentachloorfenol; hexachlorofene en diphenylesthers etc.
Bij verhitten/verbranden van PCB's in aanwezigheid van zuurstof kunnen PCDF's gevormd worden, deze zijn dan ook aangetoond in commerciële PCB's mengsels. Naast de gevormde PCDF's kunnen er ook spoortjes PCDD's gevormd worden doordat PCB mengsel vaak verontreinigd zijn met chloorbenzenen welke omgezet kunnen worden naar de PCDD's. Sinds 1929 is er meer dan 1 miljoen ton PCB's geproduceerd voor elektrische chemische en industriële toepassingen. Na 1980 is de productie sterk afgenomen en in 1984 werden in de EU alleen nog door Frankrijk en Spanje PCB's geproduceerd. De productie van PCB's is gebaseerd op de chlorering van biphenylen bij verhoogde temperatuur en in aanwezigheid van een katalysator. Afhankelijk van de condities wordt een chlorering van 20 tot 68 procent bereikt. Het gevormde product is een mengsel van verschillende congeneren. Commerciële producten worden nog gezuiverd door filtratie en distillatie. Helaas blijven er altijd wat spoortjes aanwezig o.a. PCDF's (concentratie 10-50 ppt). PCB's werden veelal gebruikt in elektrische onderdelen zoals condensatoren, transformatoren en als warmtewisselaar en in diverse soorten plastic. Sinds eind 1970 worden de PCB's in condensatoren vervangen door minerale olie, silicone olie etc. De emissie in het milieu werd vroeger voornamelijk veroorzaakt door het gebruik in plastics en het morsen vanuit industriële systemen en/of het illegaal dumpen. De totale emissie is de afgelopen 10 jaar aanzienlijk gedaald.

De "Belgische" dioxinen crisis is ontstaan doordat het bij de bereiding van veevoeder gebruikte technische vet verontreinigd was met een PCB mengsel *(opzettelijk of door een technisch mankement?)* wat weer verontreinigd was met dioxinen voornamelijk PCDF's
De toxiciteit van dioxinen en de dioxineachtige PCB's wordt bepaald door activiteit van de verschillende PCDD/F's op het immuunsysteem Het blijkt dat de activiteit van de verschillende congeneren nogal verschillen ten opzichte van elkaar, dit heeft geleid tot een selectie van zeventien PCDD/f's die de hoogste toxiciteit vertonen en dus het meest toxische zijn. De relatieve activiteit van deze zeventien congeneren is bepaald t.o.v. 2,3,7,8-TCDD, dit is de congeneren met de hoogste activiteit op het immuunsysteem.

Opmerking

Door het Scientific Committee on Animal Nutrition is een rapport opgesteld getiteld:
Dioxin Contamination of feedingstuffs and their contribution to the contamination of food of animal origin
Voor de een kopie van de samenvatting, de conclusies en de aanbevelingen zie het dossier Dioxinen op de site van RIKILT.

Bronnen/vermijdbaarheid

Er is een aantal bronnen welke voor dierlijke producten van belang kunnen zijn. Naast het gebruikte krachtvoer is met name voor melkvee een eventuele besmetting van het oppervlakte water en van het gras/hooi/kuil van belang. Besmetting van drinkwater voor vee en gras voor wat betreft de dioxinen vindt voornamelijk plaats door emissie van rookgassen van b.v afvalverbrandingsinstallaties (AVI). *Besmetting van drinkwater is voor zover bekend niet erg relevant (uitgezonderd mogelijke incidenten???).* Door het verbeteren van de processen welke bij de AVI's toegepast worden onder andere gescheiden verbranden, hogere temperaturen, inbouwen van speciale filters in schoorstenenen etc. is men er in geslaagd om de emissie aan dioxinen in de meeste situaties drastisch te beperken. Dit heeft geleid tot een aanzienlijke reductie van het dioxinen gehalten in melk. Bij het gebruikte veevoer speelt emissie van dioxinen en daarmee gepaard gaande directe besmetting van landbouwproducten uiteraard ook een rol. Daarnaast is gebleken dat het gebruik van recycled materiaal kan leiden tot verhogingen. Voorbeelden hiervan zijn, destructievetten, kleimineralen, kalksteen, cholinechloride etc.
Ook dragen een aantal veevoedergrondstoffen zoals visolie/meel permanente bij aan het verhogen van de achtergrond besmetting van zowel dioxinen als PCB's. Daarnaast leveren sommige productieprocessen ook een bijdrage aan het dioxinen gehalte bijvoorbeeld het drogen van gras. Dit gebeurt vaak door het direct in contact brengen van het te drogen materiaal verontreinigde rookgassen grasbrokken
Het achtergrond gehalte aan dioxinen in dierlijke producten kan onder andere teruggedrongen worden door grondstoffen te gebruiken welke onverdacht zijn (b.v. visolie/meel uit Zuid Amerika) alsmede door het verwerken van rest of gerecycled materiaal achterwege te laten of door deze stromen goed te controleren.
Tevens dienen productieprocessen gecontroleerd te worden op kritische punten. Bij droogprsoceesen dient aardgas als brandstof te worden gebruikt. Het gebruik van PCB houdende olie in technische systemen bij productie van veevoedergrondstoffen dient verboden te worden.

Overdracht van diervoeder naar dier, mens en milieu
Dient nog nader beschreven te worden
Uit onderzoek is gebleken dat het dioxinegehalte in melk na vervoederen van met dioxine besmet veevoeder snel toeneemt. Na het vervoederen gedurende twee weken van licht besmet CPP werd de norm van 6 pg i-TEQ/gram vet reeds overschreden.

Beschikbare analysemethoden

De kwantitatieve bepaling van polychloorbifenylen is in de afgelopen jaren een onderwerp geweest van een groot aantal studies. Na extractie en opzuiveren vindt de uiteindelijke meting plaats met behulp van een gaschromatograaf welke voorzien is van een Elektron Captuer detector (ECD) of een massaspectrometer. Het onderzoek richt zich i.h.a. op de aanwezigheid van de zeven indicator PCB's (CB 28; 52; 1001; 118; 138;153 en 180). Inmiddels zijn er systemen beschikbaar welke het opzuiveren en meten combineren. Hierdoor is de analyse van de zeven indicator PCB's vergaand geautomatiseerd en kunnen grote series in een relatief korte periode doorgemeten worden.

De kwantitatieve bepaling van dioxinen en dioxineachtige PCB's is buitengewoon gecompliceerde, tijdrovend en er zijn kostbare standaarden nodig. De analyse richt zich met uitzondering van de milieumonsters op de bepaling van de zeventien meest toxische congeneren. Dit zijn die congeneren waarvan het waterstof atoom in ieder geval op de 2,3,7,8 positie vervangen is door een chlooratoom.
In eerste instantie dient aan het te onderzoeken monsters een bekende hoeveelheid van de zeventien te bepalen congeneren toegevoegd te worden maar dan ^{13}C gelabeld. Vervolgens vindt er indien nodig een extractie plaats en vervolgens een uitgebreide opzuivering. De opzuivering is gericht op het verwijderen van mogelijk interferende verbindingen zoals PCB's bestrijdingsmiddelen en van nature voorkomende relatief kleine moleculen welke in een 10^{4}tot 10^{6} hogere concentratie dan de dioxinen zelf aanwezig kunnen zijn en die de uiteindelijke bepaling drastisch kunnen verstoren.
Vervolgens dient de meting uitgevoerd te worden op een gaschromatograaf welke gekoppeld is aan een hoge resolutie massaspectrometer.
Uit de analyse volgen gehalten per gemeten congeneer (dus van de zeventien 2,3,7,8 gesubstitueerde verbindingen) uitgedrukt in pg/gram vet of product. De gehalten van de individueel gemeten congeneren worden vervolgens vermenigvuldigd met de bijbehorende Toxiciteit Equivalent Factoren (TEF). Op deze wijze wordt het gehalte van iedere congeneer uitgedrukt als ware het 2,3,7,8-TCDD, zijnde de meest toxische congeneer. Vervolgens worden al deze omgerekende waarden gesommeerd en wordt het gehalte uitgedrukt in pg i-TEQ/gram vet of gram product en getoetst aan de vastgestelde norm.
Naast de PCDD/F's zijn er ook een aantal dioxineachtige chloorbifenylen welke in de toekomst meegenomen dienen te worden bij de beoordeling of een product geschikt is voor menselijke consumptie of als veevoeder mag worden gebruikt (zie bijlage 2)

Door een groep van Europese experts zijn een aantal richtlijnen opgesteld waaraan in dit veld werkzame laboratoria zich moeten houden. Het aantal laboratoria die zich bezig houden met het dioxinenonderzoek is vrij beperkt. Uit een recent door de Noorse overheid georganiseerde internationale ringtest naar het dioxinegehalte in kip, boter en vis werd wereldwijd deelgenomen door slechts 42 laboratoria.

Naast deze zogenaamde referentiemethoden zijn er ook een aantal fabrikanten die screeningstesten aanbieden. Een aantal tests is gebaseerd op immunologische technieken, deze zijn, gezien de beperkte gevoeligheid, slechts geschikt voor het screenen van relatief hoog besmette milieumonsters. Daarnaast wordt er door twee firma's een bioassasy op de markt gebracht de zogenaamde CALUX test
De CALUX assay is een snelle screeningsassay waarmee dioxines en aanverwante stoffen worden opgespoord op basis van hun toxische werking. Speciaal ontwikkelde cellen worden blootgesteld aan extracten en reageren op dioxines door het enzym luciferase te maken. De concentratie luciferase is daardoor een maat voor de hoeveelheid dioxines. De opwerking van monsters is veel eenvoudiger en sneller dan die voor de GC/MS methode en kan in grote series plaatsvinden. Doordat de test in principe ook kan reageren op een beperkt aantal andere stoffen is er een kleine kans op vals-positieve resultaten en moeten positieve resultaten bevestigd worden met GC/MS.
Een negatief resultaat duidt op concentraties van dioxines beneden de normale achtergrondbesmetting. Tot dusver zijn er geen stoffen bekend die de respons van de test kunnen onderdrukken en daardoor een vals-negatief resultaat kunnen veroorzaken. Onderzoek aan melkvet en citruspulp ondersteunen deze aanname.
Een positief resultaat in de CALUX-assay duidt op de mogelijke aanwezigheid van dioxines of bepaalde PCBs (met dioxine-achtige werking). Echter, er bestaat altijd de mogelijkheid dat een nog onbekende stof aanwezig is, waarbij het niet noodzakelijkerwijs om een milieucontaminant gaat. Daarom is bevestiging met de referentiemethode noodzakelijk om definitief uitsluitsel te kunnen geven.

De test is zeer gevoelig voor zowel vetten als veevoeder en laat duidelijke en reproduceerbare verschillen zien tussen een blanco pulp monster en een monster waarin met de GC/MS methode 500 pg i-TEQ/kg is gemeten. Ook laat de test duidelijke verschillen zien tussen een blanco vet (dierlijk of plantaardig) en een monster waarin met de GC/MS methode 2 tot 3 pg i-TEQ/g vet is gemeten. Rapportage zal in eerste instantie plaatsvinden in termen van negatief; licht verhoogd of verdacht. Aansluitend kan in de QA monsters en in de verdachte monsters het feitelijk gemeten signaal vergeleken worden met de GC-HRMS resultaten. Een nadeel van de CALUX test is dat er geen informatie wordt verkregen over het dioxinenpatroon

Het RIKILT heeft zowel voor de referentiemethode als voor de CALUX assay een accreditatie.

Wim Traag