



Cuantificación de dioxinas por cromatografía de gases/espectrometría de masas de baja resolución (GC/LRMS) en carnes y leches consumidos en Nuevo León

LIDIA RUNIA NACCHA TORRES*, MA. GUADALUPE ALANÍS GUZMÁN**,
ANABEL TORRES CIRIO*, NOEMÍ WAKSMAN DE TORRES*



Las dioxinas, contaminantes organoclorados persistentes ampliamente dispersos en el medio ambiente, se encuentran acumuladas en alimentos grasos. Han sido consideradas como los compuestos más tóxicos producidos por el hombre. El término “dioxinas” abarca un grupo de 75 policlorodibenzo-*p*-dioxinas (PCCDs) y 135 policlorodibenzofuranos (PCDFs) congéneres, de los cuales 17 son considerados de riesgo toxicológico.^{1,2} El congénere más tóxico es la tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (TCDD),^{1,3,7,8} clasificado por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer y otras organizaciones internacionales de reconocido prestigio como cancerígeno humano.³

□ El presente artículo está basado en la investigación “Cuantificación de dioxinas por cromatografía de gases/espectrometría de masas de baja resolución (GC/LRMS) en carnes y leches consumidos en Nuevo León”, galardonada con el Premio de Investigación UANL 2011 en la categoría de Ciencias de la Tierra y Agropecuarias, otorgado en sesión solemne del Consejo Universitario, en septiembre de 2011.

El estudio de las dioxinas es muy importante por los diferentes efectos tóxicos que producen en los seres humanos. Estos efectos dependen del grado de exposición, y pueden manifestarse como: cloracné, cambios metabólicos y hormonales, alteraciones a nivel del sistema reproductor masculino y femenino, efectos en el sistema cardiovascular, daño en el sistema nervioso, daños hepáticos, alteraciones del sistema inmunitario, teratogenicidad y carcinogenicidad.^{4,5}

La OMS estimó que 90% de los casos de exposición humana a las dioxinas se da a través de la ingesta de alimentos contaminados de origen animal, de los cuales las fuentes predominantes son carnes, pescados y productos lácteos.⁶

El aporte nutricional de la carne, sobre todo como fuente de proteínas, hierro, riboflavina y niacina, la hace alimento indispensable en la dieta humana. Por otra parte, la leche, rica en calcio

* Departamento de Química Analítica, FM-UANL. P.O. Box 2316, Suc. Tecnológico, 64841, Monterrey, N.L. huahuacha@hotmail.com

** Facultad de Ciencias Biológicas, UANL.

y vitamina D, entre otros nutrientes, adquiere como alimento una importancia fundamental, debido a que ésta va destinada en buena medida a categorías poblacionales más vulnerables a los efectos perniciosos de sustancias químicas dañinas: los niños. Por otro lado, el importante contenido graso de la leche materna la convierte en un vehículo de transferencia de los contaminantes a la descendencia.⁷

Debido a su complejidad, y por el alto costo que implica la determinación de estos compuestos tóxicos, principalmente por el empleo de equipos de alta resolución, como la cromatografía de gases de alta resolución acoplada a la espectrometría de masas de alta resolución (HRGC/HRMS), sólo algunos países industrializados han logrado el desarrollo de metodologías, así como la experiencia en la medición y análisis de dioxinas provenientes de diferentes fuentes. Posiblemente por esta razón, en México hay poca información sobre dioxinas. Sin embargo, el que no haya datos, no quiere decir que no existan los problemas de salud o medio ambiente que puedan ser provocados por dioxinas o compuestos similares.

El presente trabajo de investigación se enfoca al desarrollo, validación y aplicación de un método analítico económico y confiable para la determinación y cuantificación de dioxinas en carnes y leches que se consumen en el estado de Nuevo León, por medio de cromatografía de gases/espectrometría de masas de baja resolución (GC/LRMS). De este modo, con esta técnica se podría iniciar el monitoreo de dioxinas en México.

Materiales y métodos

Las muestras de carne de res fueron proporcionadas por el Centro de Investigación Regional del Noreste de la Sociedad Ganadera. Estas muestras fueron recolectadas en rastros de plantas TIF (Tipo Inspección Federal) de Nuevo León. Las muestras de leche fueron adquiridas al azar en los diferentes supermercados del área metropolitana de Monterrey.

Todos los solventes utilizados fueron de grado pesticida: metanol, dietil éter, éter de petróleo, diclorometano, tolueno y n-hexano (Merck, Alemania), nonano (Fluka, Suiza), Florisil (EMD, Alemania), ácido sulfúrico 95-97% y sílica gel 60 tamaño de partícula 0.063-0.2 mm (Merck, Alemania), nitrato de plata, hidróxido de sodio y sulfato de sodio anhidro ACS (J.T. Baker, México), alúmina básica (Sorbent Technologies, USA).

Los estándares de dioxinas y furanos utilizados fueron acorde al método EPA1613 de Wellington Laboratories Inc. (Guelph, Ontario, Canada), con certificado de pureza: solución de calibración y verificación CS1-CS5 (EPA-1613CS1-CS5), solución de compuestos marcados isotópicamente con $^{13}\text{C}_{12}$ (EPA-1613LCS), solución de estándar interno (EPA-1613ISS), solución de recuperación y precisión (EPA-1613PAR).

Métodos

La determinación de dioxinas se realizó de acuerdo a lo establecido por el método USEPA 1613,⁸ con modificaciones realizadas en el Laboratorio de Dioxinas del CSIC de Barcelona, España, y los trabajos de Abad *et al.*⁹ y de Eljarrat *et al.*¹⁰ El método está compuesto de una etapa de extracción y otra de limpieza que comprende la purificación y fraccionamiento.

Extracción. Debido al carácter lipofílico de las dioxinas, fue necesario determinar primero el contenido graso de las matrices estudiadas. La extracción de la grasa de la carne se realizó por el método Soxhlet, con 400 mL de tolueno: ciclohexano (1:1). En este paso se adicionó una concentración conocida del estándar EPA-1613LCS marcado isotópicamente con $^{13}\text{C}_{12}$ (estándar surrogado), para cuantificar las dioxinas por el método de dilución isotópica. Por otra parte, se pesaron 200 mL de leche, y se transfirió a un embudo de separación de 2000 mL, se agregaron 2 g de oxalato de sodio para romper la emulsión y facilitar la liberación de la grasa, se agitó por 20 segundos; luego se adicionaron 200 mL de

metanol y se agitó por 10 segundos. Posteriormente se adicionaron 200 mL de dietiléter, y se fortificó con una concentración conocida del estándar EPA 1613LCS (estándar surrogado) y se agitó por 30 segundos, en esta etapa comienza la separación de la grasa. Finalmente, se adicionaron 200 mL de éter de petróleo, y se agitó por 60 segundos. Se dejó reposar durante 24 horas. La fase orgánica se recibió en un matraz bola de 1 L; se realizó una segunda extracción a la fase acuosa, pero sólo desde la fase de extracción con dietiléter, dejando nuevamente reposar 24 horas. La fase orgánica se evaporó y se dejó durante 12 hrs. a 105°C en la estufa.

Limpieza. La grasa fue transferida con 100 mL de n-hexano a un embudo de separación y la extracción de dioxina se realizó con ácido sulfúrico concentrado (50 mL por vez), hasta obtener una fase acuosa de color pardo claro. El extracto orgánico se evaporó hasta obtener un volumen de 3 mL. Este extracto se sometió al proceso de limpieza, a fin de eliminar impurezas.

El proceso de limpieza se basa en el uso secuencial de columnas de sílica multicapa, florisil y alúmina básica. La primera columna de sílica multicapa está compuesta por capas secuenciales de (2 g) Na_2SO_4 |(0.5 g) SiO_2 |(10 g) SiO_2 - H_2SO_4 |(0.5 g) SiO_2 |(5 g) SiO_2 - NaOH |(0.5 g) SiO_2 |(2 g) SiO_2 - AgNO_3 |. La columna de sílica multicapa se acopló a la columna de florisil y se eluyó con 50 mL de n-hexano, que sirve para acondicionar la columna y a la vez obtener una buena compactación. Enseguida se introdujo el extracto de n-hexano, y se eluyó con 250 mL de n-hexano, esta primera fracción se descartó y se retiró la columna de sílica multicapa. La columna de florisil se eluyó con 150 mL de una mezcla de tolueno: éter etílico (90:10) para recuperar las dioxinas, esta segunda fracción se concentró hasta un volumen de 1 a 3 mL. El extracto se introdujo en la columna de alúmina básica acondicionada con 50 mL de n-hexano. Se eluyó con una primera fracción de 25 mL de n-hexano, seguida de una segunda fracción compuesta por 20 mL de n-hexano:diclorometano (98:2), estas dos frac-

ciones fueron descartadas. En una tercera fracción eluida con 50 mL de n-hexano: diclorometano (50:50) se recuperaron los PCDD/PCDF. Finalmente, esta tercera fracción se concentró hasta sequedad.

Cuantificación. El extracto seco se reconstituyó con 5 μL de nonano y se adicionó 5 μL del estándar EPA-1613ISS para realizar la cuantificación. Este extracto se analizó en un cromatógrafo de gases 6890N con un detector selectivo de masas (MSD) 5973 INERT Agilent Technologies (Wilmington, DE), con fuente de ionización de impacto de electrones y analizador cuadrupolo.

La separación cromatográfica se llevó a cabo en columna capilar HP-5ms (Agilent Technologies) de 60 m x 0.25 mm ID x 0.25 mm tamaño de partícula, empleando helio como gas acarreador con un flujo de 3.4 mL/min, volumen de inyección 2 μL modo splitless. El programa de temperatura inicial fue 180°C por 1 min, rampa 1: 25°C/min hasta 200°C, rampa 2: 3°C/min hasta 270°C por 44 min. Las condiciones de operación para GC/LRMS fueron las siguientes: temperaturas de la fuente de ionización 200°C., temperatura del inyector 300°C., temperaturas de la interfase y del cuadrupolo 270°C y 120°C, respectivamente, energía de ionización 70eV. El poder de resolución fue de 1000 y el intervalo de masas de 304-472 m/z. Modo de adquisición de datos SIM. Los dos iones mayores de cada grupo de ión molecular se monitorearon para cada compuesto. Un blanco de método fue incluido cada cinco muestras. Cada vez que se inyectaba muestras se corría también un estándar de referencia, sobre todo para controlar los tiempos de retención y así identificar los congéneres presentes.

La cuantificación se llevó a cabo por el método de dilución isotópica, usando una mezcla de estándar marcados con $^{13}\text{C}_{12}$ y no marcados.⁸ Los factores de respuesta relativa se calcularon para cada uno de los 17 congéneres de PCDD y PCDF, analizando cinco mezclas diferentes de estándares nativos y marcados. Los resultados se expresaron en pg WHO-TEQ/g grasa.¹¹

Resultados y discusión

Inicialmente, el GC/LRMS se operó en modo SCAN; posteriormente, en modo SIM, para definir los tiempos de retención. De acuerdo al orden de elución, los intervalos para los congéneres tetraclorados están entre 9 y 18 minutos, para los congéneres pentaclorados entre 18 y 22 minutos para los congéneres hexaclorados; entre 22 y 26 minutos, para los congéneres heptaclorados, entre 26 y 32 minutos; y para los congéneres octaclorados entre 32 y 36 minutos. En la tabla I se presenta el resumen de los datos de validación del sistema cromatográfico obtenidos.

Tabla I. Resumen de los criterios de validación determinados para PCDD/PCDF por GC/LRMS.

Criterio	PCDD (TCDD)	PCDF (TCDF)	Método USEPA 1613
Valle de isómeros específicos	16%	9.76% (HxCDF)	≤ 25%
Nivel mínimo cuantificable	2.0 pg/μL S/N > 10	1 pg/μL S/N > 10	S/N ≥ 10
Relación de abundancia de iones isotópicos	0.84	0.74	M / M+2 = 0.65 – 0.89
Linealidad CV intradía CV interdía	4.09% 16.65%	5.09% 11.65%	≤ 20%

Se ha considerado sólo la 2,3,7,8-TCDD y al 2,3,7,8-TCDF, debido a que estos congéneres se encuentran en menor concentración; además, la 2,3,7,8-TCDD es la más tóxica. Estos resultados cumplieron con los criterios de aceptación establecidos por la USEPA 1613. En estos criterios se establece que el valle de isómeros específicos debe ser inferior a 25%. El resultado obtenido en la cuantificación fue de 16% para TCDD, 19.60% para HxCDD y 9.76% para HxCDF. El resto de criterios de validación se encuentra dentro de lo establecido por el método USEPA 1613, como se

reportó previamente,¹² con un límite de detección de 0.5 pg/μL para PCDD y PCDF, y un límite de cuantificación de 2 pg/μL para PCDD y 1 pg/μL para PCDF.

Validación y aplicación del método desarrollado

La exactitud del método se evaluó en base al porcentaje de recuperación (%R). Los porcentajes de recuperación obtenidos para carnes fueron de 70% a 166%; y para leches, de 43% a 162%, los cuales se encuentran dentro de los rangos establecidos por el método USEPA 1613, tanto para furanos como dioxinas (tabla II). La precisión se calculó en función del porcentaje de desviación estándar relativa. En carnes se obtuvieron resultados que van de 8.05% a 19.89%, el primero correspondió al 1,2,3,6,7,8-HxCDD, y el segundo al 1,2,3,7,8-PeCDD, cumpliendo con el criterio establecido por la CE, que señala que debe ser menor que 30%.¹³ En leches se obtuvieron resultados que van de 6.16% a 18.75%, el primero correspondió al 1,2,3,7,8 - PeCDD y el segundo al 2,3,7,8 - TCDF, cumpliendo con el criterio establecido por la CE, que señala que debe ser menor que 30%.¹³

Con el método establecido se analizaron diez muestras de carne. Las concentraciones de los congéneres individuales variaron desde no detectados (N.D) hasta 32.54 pg/g en base al peso lipídico. Todos los valores se ajustaron al conte-

Tabla II. Porcentaje de recuperación en muestras de carne y leche.

Congéneres	%R Carnes	%R Leches
TCDD	87-144	134-162
TCDF	70-116	79-133
PeCDD	97-170	126-153
PeCDF	80-166	67-120
HxCDD	94-137	57-110
HxCDF	90-150	78-105
HpCDD	74-135	78-125
HpCDF	77-147	82-131
OCDD	80-123	43-66

nido graso de la muestra. Uno de los aspectos interesantes de la presencia de PCDDs/PCDFs en la carne de res se refiere a la existencia particular de la mezcla compleja de congéneres tóxicos y no tóxicos. Las más dominantes fueron las dioxinas, siendo la más abundante la OCDD, con un rango de 1.20 a 67.78 pg/g grasa, seguido de la 1,2,3,4,7,8,9-HpCDD, con un rango de 0.40 a 63.85 pg/g grasa. Sin embargo, estos valores altos no son importantes en el valor TEQ, debido a que sus valores TEF son bajos, 0.0001 y 0.01, respectivamente. Lo mismo sucede con el 1,2,3,4,7,8-HxCDF, que se encontró en un rango de 1.11 a 21.74 pg/g grasa, cuyo valor TEF es de 0.1. Sin embargo, la presencia de 2,3,7,8-TCDD y 1,2,3,7,8-PeCDD con niveles de 0.11 a 2.84 pg/g grasa y 0.25 a 4.63 pg/g grasa, respectivamente, y cuyos valores TEF son de 1, indica la existencia de muestras contaminadas, las cuales alertan sobre un posible factor de riesgo.

Los congéneres dominantes en las muestras fueron, en caso de los furanos: 2,3,4,7,8-PeCDF y 1,2,3,4,7,8-HxCDF, y, entre las dioxinas: 1,2,3,6,7,8-HxCDD y 1,2,3,7,8,9-HxCDD, la concentración más baja encontrada fue para la 1,2,3,4,7,8-HxCDD (figura 1). El perfil de congéneres hallado fue muy similar al reportado por

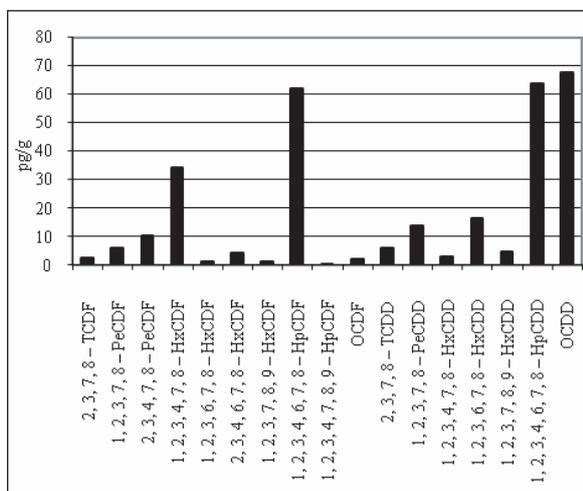


Fig. 1. Distribución de PCDDs/PCDFs en muestras de carne de res (expresadas en pg/g grasa).

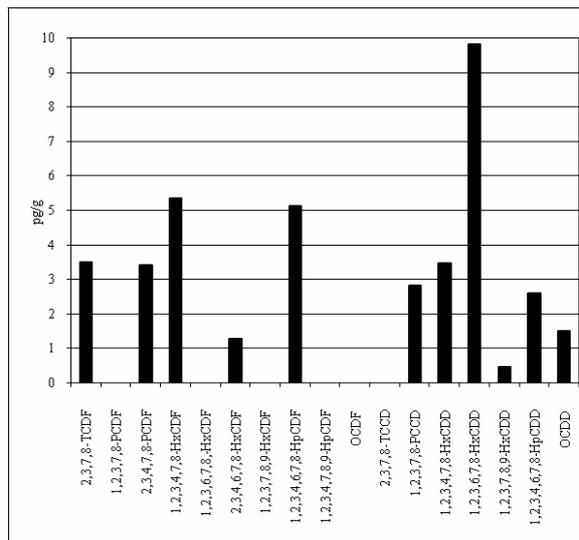


Fig. 2. Distribución de PCDD/PCDF en muestras de leche pasteurizadas de vaca (expresadas en pg/g grasa).

otros autores en carne de res, como Focant *et al.*,¹⁴ en Bélgica, y Kim *et al.*,¹⁵ en Corea. Asimismo, se analizaron diez muestras de leche. Las concentraciones de los congéneres individuales variaron desde no detectados (ND) hasta 9.82 pg/g de grasa. El LOD de los congéneres individuales estuvo entre 0.14 a 0.71 pg/g grasa. Los valores máximos reportados de cada congener en las muestras de leches fueron semejantes a los reportados por países industrializados.¹⁶ La 2,3,7,8-TCDD no fue detectada (figura 2). Dentro de los PCDF, el más abundante fue el 1,2,3,4,7,8-HxCDF, con un rango de 1.43 a 5.34 pg/g grasa; estos valores son menores a los reportados por Turrio-Baldassarri *et al.*,¹⁷ que son de 4.5 a 11.9 pg/g grasa en leches de vaca en Brescia, Italia.

Los grados de toxicidad de los PCDD/PCDF se expresan a nivel mundial en pg WHO-TEQ/g grasa.¹⁶ Los niveles encontrados en carne varían entre 0.26 y 7.94 pg WHO-TEQ/g grasa. Cuatro muestras de las diez analizadas presentaron concentraciones de 6.31, 7.94, 3.05 y 4.84 pg WHO-TEQ/g grasa. Estas concentraciones exceden el límite máximo permitido por la regulación de la Comunidad Europea, que es de 3 pg WHO-TEQ PCDD/PCDF/g peso grasa.¹⁸ Por tanto, las cua-

tro muestras se identificaron como contaminadas. Estos resultados son un foco de alarma que nos señala la existencia de alimentos contaminados en nuestro país. Los niveles encontrados en leches varían entre 0.16 y 2.81 pg WHO-TEQ/g grasa con un promedio de 1.95, los cuales están por debajo del límite máximo permitido por la Comunidad Europea que es de 3 pg, WHO-TEQ PCDD/PCDF/g grasa de leche;¹⁸ por lo tanto, ninguna muestra de las analizadas se considera contaminada. Los niveles medidos en el presente estudio no son diferentes a los determinados en diversos países de la Unión Europea. Así, Eljarrat *et al.*,¹⁹ en España, en un programa de vigilancia de PCDD/PCDF, en diferentes alimentos, reportaron para leches un promedio de 0.81 pg WHO-TEQ/g grasa, con una cantidad máxima de 1.14 pg WHO-TEQ/g grasa de leche. Fernández *et al.*,²⁰ en un estudio realizado también en España, reportaron un promedio de 0.89 pg WHO-TEQ/g grasa para leches pasteurizadas de vaca.

Conclusiones

Se desarrolló un método analítico económico y confiable para la determinación de dioxinas en carnes de res y leches pasteurizadas, empleando GC/LRMS. Los niveles de dioxinas detectados en carnes de res están comprendidos entre 0.26 y 7.94 pg WHO-TEQ PCDD/PCDF/g de grasa. De estas muestras, cuatro exceden el límite máximo permitido por la Comunidad Europea, el cual es de 3 pg WHO-TEQ PCDD/PCDF/g grasa. Los niveles de dioxinas detectados en leches pasteurizadas están comprendidos entre 0.16 y 2.81 pg WHO-TEQ PCDD/PCDF/g de grasa. Estos niveles están por debajo del límite máximo permitido por la Comunidad Europea, el cual es de 3 pg WHO-TEQ PCDD/PCDF/g grasa. Los resultados obtenidos con el equipo de GC/LRMS permiten afirmar que se puede realizar el monitoreo de dioxinas en carnes de res y leches pasteurizadas con este tipo de equipo, sobre todo en los países en vías de desarrollo, ya que el equipo de

alta resolución cuesta diez veces más que el de baja resolución. El presente trabajo de investigación, el primero acerca del análisis de dioxinas en carnes y leches en México, genera un precedente para el monitoreo de dioxinas en otros alimentos.

Agradecimientos

A Sagarpa-Conacyt 2002-C01-1140 y al Paicyt - 04, por sus apoyos financieros al proyecto.

Resumen

Se determinaron dioxinas en carnes y leches empleando GC/LRMS. Los niveles detectados en carnes están comprendidos entre 0.26 y 7.94 pg WHO-TEQ PCDD/PCDF/g de grasa. Los niveles detectados en leches están comprendidos entre 0.16 y 2.81 pg WHO-TEQ PCDD/PCDF/g de grasa. Los resultados obtenidos con GC/LRMS permiten afirmar que se pueden rastrear dioxinas en carnes y leches. Éste es el primer reporte de análisis de dioxinas en carnes y leches en México y genera un precedente para el monitoreo de dioxinas en otros alimentos.

Palabras clave: Dioxinas, Carne de res, Leche de vaca, GC/LRMS, México.

Abstract

Dioxins were determined in meat and milk using GC /LRMS. The levels found in meat are between 0.26 and 7.94 pg WHO-TEQ PCDD/PCDF/g fat. The levels found in milk are between 0.16 and 2.81 pg WHO-TEQ PCDD/PCDF/g fat. The results here presented, demonstrate that GC/LRMS can be used for the screening of dioxins in meat and milk. As far as we know, this is the first report of analysis of dioxins in meat and milk in Mexico and generates a precedent for the monitoring of dioxins in foods.

Keywords. Dioxins, Beef, Cow's Milk, GC/LRMS, México.

Referencias

1. WHO 2001. PCDD, PCDF and Coplanar PCB, Safety Evaluation of Certain Food and Food Additive and Contaminants. Who Food Additives Series: 48. Geneva: World Health Organization.
2. Huwe J.K. 2002. Dioxins in food: A modern agricultural perspective. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 1739-1750.
3. Steenland K., Bertazzi P., Baccarelli A., Kogevinas M. 2004. Dioxin revisited: Developments since the 1997 IARC classification of dioxin as a human carcinogen. *Environmental Health Perspectives* 112 (13): 1265-1268.
4. Kogevinas M. 2001. Human health effects of dioxins: cancer, reproductive and endocrine system effects. *Human Reproduction Update* 7 (3): 331-339.
5. Lundqvist C., Zuurbier M., Leij M., Johansson C., Ceccatelli S., Saunders M., Schoeters G., Tusscher G.T. and Koppe J. 2006. The effects of PCB_s and dioxins on child health. *Acta Paediatrica* 95: 55-64.
6. Galli C.L., Marinovich M. 1999. Dioxin and diet: A real risk?. *Organohalogen Compounds* 44: 427-431.
7. Chao H.R., Wang S.L., Lee C.C., Yu H.Y., Lu Y.K., Papke O. 2004. Level of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and biphenyls (PCDD/Fs, PCBs) in human milk and the input to infant body burden. *Food and Chemical Toxicology* 42: 1299-1308.
8. US EPA. United States Environmental Protection Agency. 1994. Method 1613: Tetra-through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by isotopic dilution HRGC/HRMS. Washington, DC.
9. Abad E., Sauló J., Caixach J., Rivera J. 2000. Evaluation of a new automated cleanup system for the analysis of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in environmental samples. *Journal of Chromatography A* 893:383-391.
10. Eljarrat E., Casanovas J., Muro R., Huguet X., Caixach J., Rivera J. 1995. Determination of chlorinated dioxins and furans by high resolution gas chromatography coupled to mass spectrometry: comparative study of LRMS and HRMS. *Química Analítica* 14:89-95.
11. Van den Berg M., Birnbaum L., Bosveld B.T.C., Brunström B., Cook P., Feeley M., Giesy J.P., Hanberg A., Hasegawa R., Kennedy S.W., Cúbica T., Larsen J.C., Van Leeuwen F.X.R., Liem A.K.D., Nolt C., Peterson R.E., Poellinger L., Safe S., Schrenk D., Tillitt D., Tysklind M., Younes M., Waern F. and Zacharewski T. 1998. Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDD, PCDF for humans and wildlife. *Environmental Health Perspectives* 106:775-792.
12. Naccha L., Alanís G., Torres A., Abad E., Ábalos M., Rivera J., Heyer L., Morales A., Waksman .N. 2010. A survey of beef samples from Mexico for dioxins using a low resolution GC/MS screening method. *Food Additives & Contaminants: Part B* 3: 64-72.
13. Commission Directive 2002/69/EC of July 2002, 2002. *Official Journal of the European Communities* 6.8:5-14.
14. Focant J.F., Eppe G, Pirard C, Massart A.C, André J.E, De Pauw E. 2002. Levels and congener distributions of PCDD, PCDF and non-*ortho* PCB in Belgian foodstuffs Assessment of dietary intake. *Chemosphere*. 48:167-179.
15. Kim M., Kim D., Yun S.J., Son S. 2008. Relationship of PCDD/Fs congener profiles between beef and raw milk in South Korea. *Chemosphere*. 70: 1563-1567.
16. Focant J.F., Pirard C., Massart A.C., De Pauw E. 2003. Survey of commercial pasteurised

- cow's milk in Wallonia (Belgium) for the occurrence of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and coplanar polychlorinated biphenyls. *Chemosphere* 52: 725-733.
17. Turrio-Baldassarri L., Alivernini S., Carasi S., Casella M., Fuselli S., Iacovella, N., Iamiceli A.L., La Rocca C., Scarcella C., Battistelli C.L. 2009. PCB, PCDD and PCDF contamination of food of animal origin as the effect of soil pollution and the cause of human exposure in Brescia. *Chemosphere* 76: 278-285.
 25. Liem A.K.D., Fürst P. and Rappe C. 2000. Exposure of populations to dioxins and related compounds. *Food Additives and Contaminants* 17:241-259.
 18. Commission Regulation (EC) N° 199/2006 of 3 February 2006 amending Regulation (EC) N° 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards dioxin and dioxin-like PCBs. *Official Journal of the European Union* L 32:37.
 19. Eljarrat E., Monjonell A., Caixach J. and Rivera J. 2002. Toxic Potency of Polychlorinated Dibenzofurans, Polychlorinated Biphenyls in Food Samples from Catalonia (Spain). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:1161-1167.
 20. Fernández M.A., Gómara B., Bordajandi L.R., Herrero L., Abad E., Abalos M., Rivera J. and González M.J. 2004. Dietary intakes of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in Spain. *Food Additives and Contaminants* 21: 983-993.

Recibido: 1 de septiembre de 2011

Aceptado: 1 de octubre de 2011