

# INFLUENCIA DE LOS PLÁSTICOS EN LA FERTILIDAD DEL SEMEN DE VERRACO

Cristina Nerín<sup>1</sup>, Pilar Alfaro<sup>1</sup>, Margarita Aznar<sup>1</sup>, María Victoria Falceto<sup>2</sup>, Olga Mitjana<sup>2</sup> y Cristina Bonastre<sup>2</sup>. 2016. [www.albeitar.portalveterinaria.com](http://www.albeitar.portalveterinaria.com)

1. Universidad de Zaragoza, Campus Río Ebro, María de Luna 3, 50018 Zaragoza.

2. Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria de Zaragoza.

[www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)

Volver a: [Reproducción e I.A. en porcinos](#)

## INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial implica el almacenamiento y el transporte de dosis de semen en tubos de termosellar, donde los espermatozoides están en contacto directo con los plásticos. Estudios recientes han demostrado que algunos componentes químicos que se transfieren desde los plásticos al semen causan fallo reproductivo y retornos a celo.

Desde hace dos décadas las dosis de semen destinadas a la producción porcina se preparan y se distribuyen a las granjas en envases plásticos (botes, tubos o blíster). Además, los fallos reproductivos (tasa de fertilidad y prolificidad) nunca se habían relacionado con el envase sino con otras causas: instalaciones, factores ambientales y de granja, calidad de semen, el agua y los piensos, etc.

El reciente descubrimiento de que los fallos reproductivos unidos al semen son provocados por la migración de compuestos desde el envase plástico hacia la dosis seminal (Nerín et al., 2014) ha puesto en alerta al sector de producción animal. La falta de control de la composición de los envases de plástico, ya sean blíster o tubos de termosellar, para su uso en contacto con el semen, así como el desconocimiento generalizado de la influencia que pueden tener los plásticos sobre cualquier producto en contacto con ellos, ha ocasionado serios episodios de problemas de desarrollo embrionario o de falta de capacidad fecundante del semen a nivel internacional.

## COMPOSICIÓN DE LOS PLÁSTICOS

Todos los materiales poliméricos generalmente llamados “plásticos” contienen aditivos, que son necesarios para proporcionarles las propiedades que su uso requiere. Entre ellos se pueden citar antioxidantes, plastificantes, agentes de deslizamiento, colorantes, absorbedores UV, estabilizantes, etc. Además de los aditivos propios del polímero, hay que considerar también los compuestos residuales procedentes de la reacción de polimerización.

Por otra parte, la necesidad de conservación frente al deterioro natural y la protección frente a la oxidación del producto pueden llevar consigo el empleo de materiales multicapa, en los que se combinan distintos materiales para conseguir menor permeabilidad al oxígeno, al CO<sub>2</sub>, al vapor de agua, etc. La mayoría de estos materiales multicapa se obtienen uniéndose con adhesivo capas de diferentes polímeros.

Finalmente, cuando se obtiene el material final, se aplican tintas de impresión con el código de barras o bien etiquetas autoadhesivas, que añadirán de nuevo, además de las tintas, otros adhesivos, etc. que pueden afectar a la capacidad reproductiva de los espermatozoides.

Si bien la matriz polimérica que da lugar al nombre principal del plástico (polietileno, polipropileno, poliamida, etc.) está constituida por moléculas muy grandes que no pueden transferirse al producto en contacto con el plástico, los aditivos y otros compuestos residuales procedentes de los plásticos, adhesivos y tintas son moléculas relativamente pequeñas. Se sabe que todas las moléculas con tamaño molecular inferior a 1.000 unidades de masa atómica (uma) difunden a través de los plásticos y se transfieren al producto en contacto con ellos. Este fenómeno, llamado migración, ocurre siempre en mayor o menor medida. La extensión en la que se produce la migración depende de las características de cada molécula, de su concentración en el plástico, de las condiciones de tiempo y temperatura de contacto entre el plástico y el producto final y de la polaridad y características del producto, ya sea sólido o líquido. Mediante este fenómeno de migración, el semen en contacto con el plástico puede verse contaminado por algunos de los compuestos procedentes del envase. Dicha contaminación puede ocasionar falta de fertilidad del semen y alteraciones en el desarrollo embrionario. Por ello, es de extrema importancia controlar cuidadosamente los plásticos que se emplean como recipientes para dosis seminales en inseminación artificial.

En los últimos años, el laboratorio del I3A en el Centro Politécnico Superior de Ingenieros (ahora Escuela de Ingeniería y Arquitectura) de la Universidad de Zaragoza ha estudiado a fondo muchos de los plásticos comerciales que se emplean en este sector, tanto blíster como tubos de termosellar de distintas procedencias. A continuación se muestran algunos de los resultados obtenidos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se han estudiado blíster y tubos de distintos proveedores relacionados con la reproducción porcina con un mínimo de cinco réplicas por envase.

El método inicial de control es el análisis de los blíster y tubos de termosellar. Para ello se realiza una extracción con disolvente y se analiza el extracto por GC-MS (cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas). Este método permite identificar los compuestos volátiles y semivolátiles presentes a partir de su espectro de masas, que es característico de cada sustancia.

Además el extracto se analiza también por UPLC-MS-Q-TOF (cromatografía líquida de ultra-alta resolución con detector de espectrometría de masas de cuadrupolo y tiempo de vuelo) para la identificación de los compuestos no volátiles.

Una vez identificados los compuestos se procede a confirmar su identidad, adquiriendo para ello el mismo compuesto puro y analizándolo en las mismas condiciones. A partir del compuesto puro se prepara una recta de calibración, con objeto de cuantificar la concentración de cada compuesto previamente identificado.

Con esta información se comprueba la toxicidad de cada compuesto y, si existe sospecha de toxicidad para la reproducción, se realiza primero un ensayo de migración a disolución acuosa, con el fin de confirmar si existe migración de dichos compuestos o no. Hay que resaltar que el primer control es el análisis del plástico, pero la sola presencia de compuestos en el plástico no implica necesariamente que haya migración en concentración suficiente como para afectar la capacidad reproductiva del semen. Obviamente, la presencia en el plástico de compuestos que ya se han demostrado que son tóxicos para la reproducción invalida dicho plástico para su uso en blíster y tubos para dosis seminales.

En el caso de que los compuestos identificados migren y no se conozca su efecto frente al semen, se realizan ensayos de reprotoxicidad con la cantidad y la sustancia detectada, así como a diferentes concentraciones crecientes y decrecientes. Estos ensayos implican el estudio de parámetros de rutina como son la motilidad, test de endósmosis, test de resistencia osmótica, vitalidad y acrosomas íntegros, así como otros análisis más complejos como el test de penetración in vitro y diferentes pruebas de fluorescencia.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las figuras 1 y 2 se muestran los cromatogramas de un extracto de tubo y de un extracto de blíster, ambos con sustancias reprotóxicas identificadas.

Los cromatogramas de la parte superior e inferior de las figuras 1 y 2 respectivamente corresponden al blanco de proceso, es decir, sin contacto con el plástico. Cada pico corresponde a un compuesto diferente.

Figura 1. Cromatogramas de un extracto de tubo de termosellar para envasado de dosis seminales.

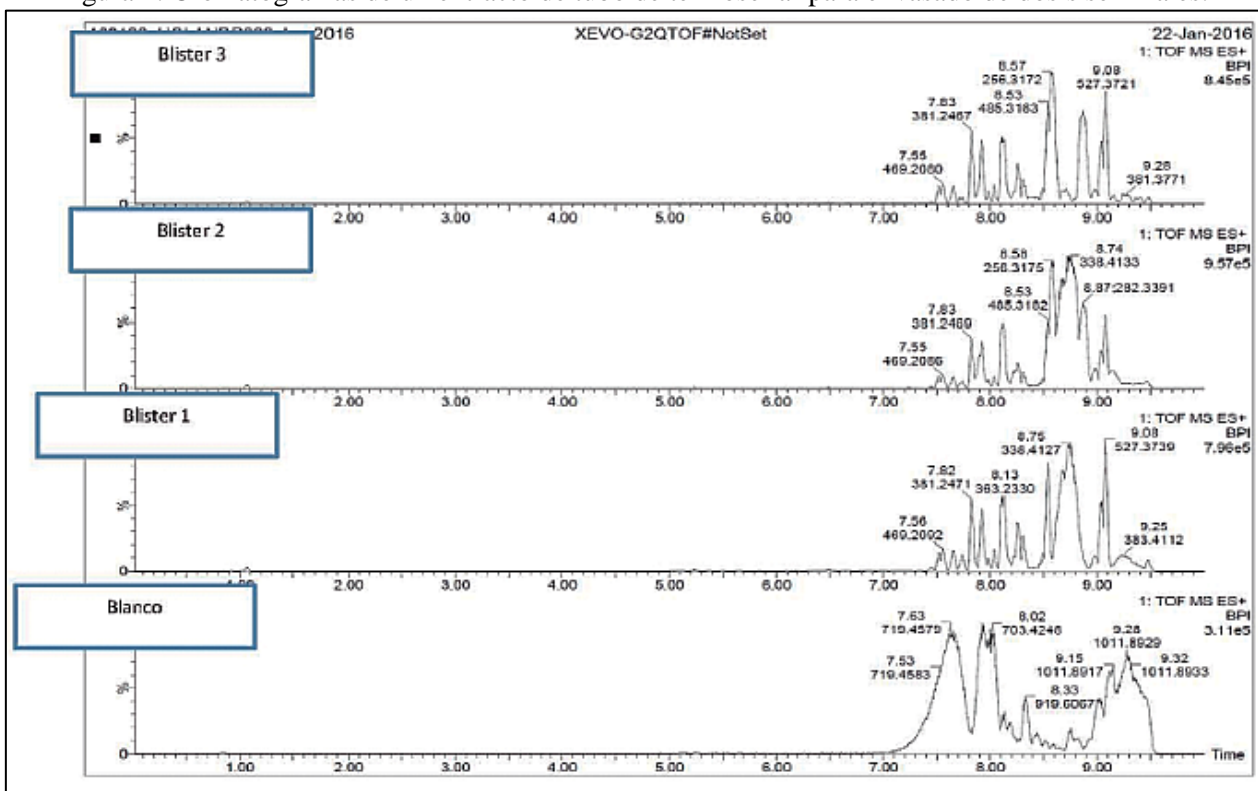
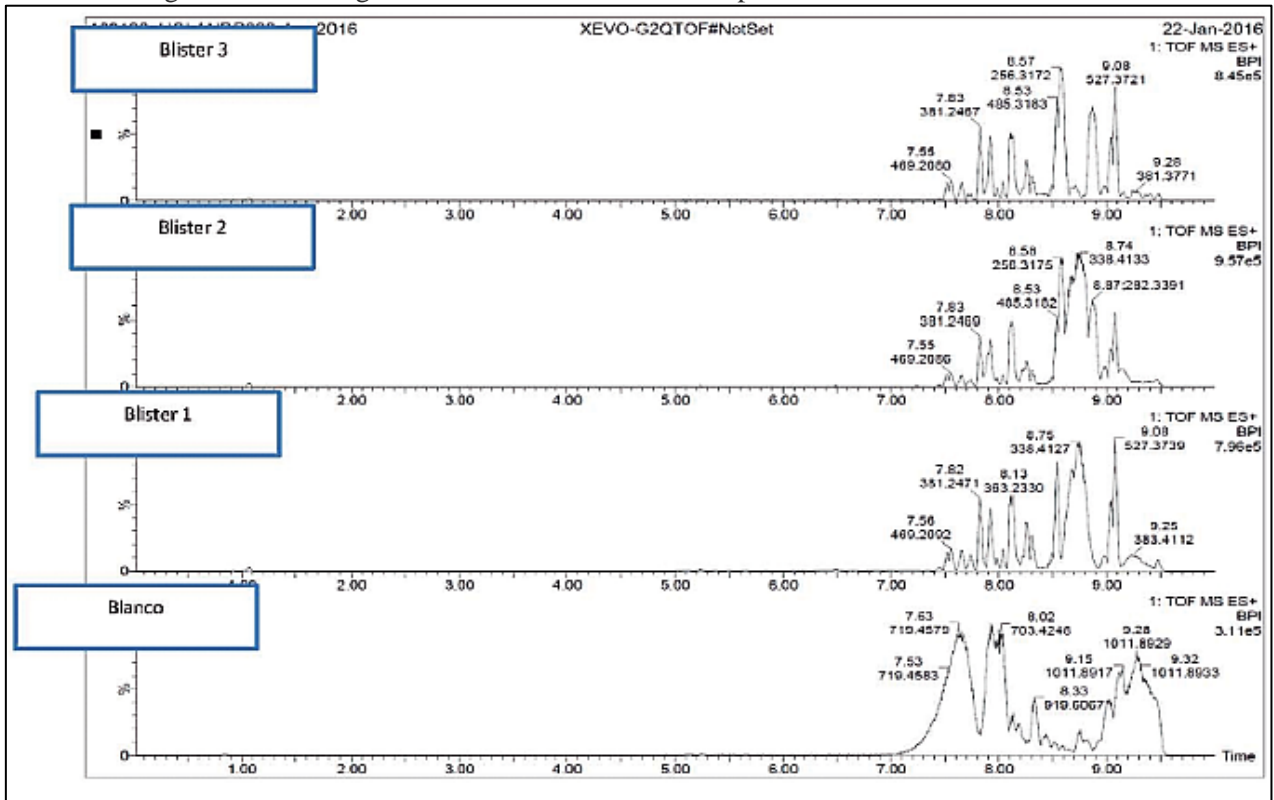


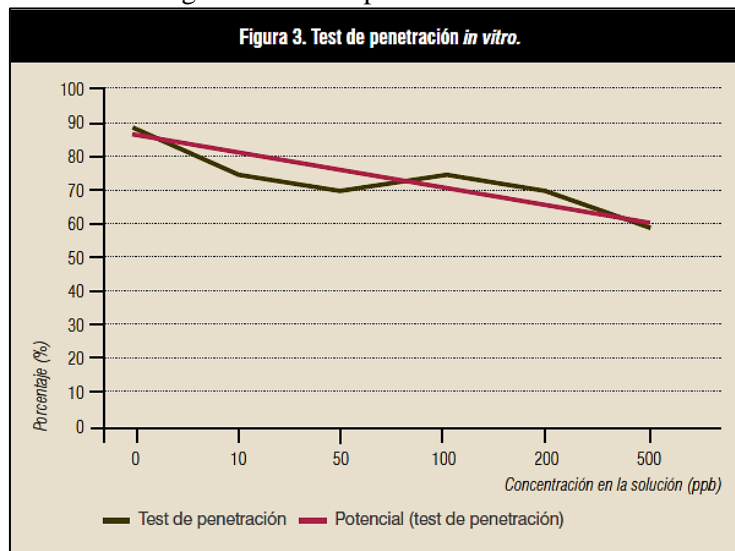
Figura 2. Cromatogramas de un extracto de blíster para envasado de dosis seminales.



Como puede observarse a partir de estos datos, hay bastante variabilidad en cuanto a la aparición de compuestos, de manera que ninguno de los plásticos estudiados puede considerarse totalmente inerte. Hay que destacar que la mayoría de los compuestos encontrados no están intencionadamente añadidos a los polímeros, sino que se trata de sustancias no intencionadamente añadidas, llamadas NIAS (Non Intentionally Added Substances) resultantes de la descomposición del polímero y sus aditivos durante la producción y manufactura a altas temperaturas. También pueden derivar de la interacción entre ingredientes de tintas y adhesivos o de las reacciones colaterales que ocurren durante la producción de los mismos.

Sin embargo, afortunadamente la mayoría de los compuestos identificados no producen ninguna alteración en el semen y por tanto no alteran su capacidad reproductiva. Hay que resaltar además que la sola presencia de compuestos en el plástico no implica que todos sean tóxicos, sino que hay que investigar si dichos compuestos migran, y si lo hacen, cuál es la concentración resultante en la disolución de semen. Como ya se ha mencionado, hay que comprobar además si dichos compuestos a esta concentración son tóxicos para la reproducción. La figura 3 muestra un ejemplo del estudio de reprotoxicidad realizado con alguna de las sustancias tóxicas detectadas cuando estas se añaden al semen en concentraciones crecientes.

Figura 3. Test de penetración *in vitro*.



Hay que destacar además que la toxicidad reproductiva no se pone de manifiesto siempre de la misma forma; por ejemplo, la figura 3 muestra una tendencia clara de disminución de la tasa de penetración al aumentar la concentración de la sustancia, en el rango de ppb ( $\mu\text{g/l}$ ), mientras que con otras sustancias este parámetro no se ve afectado.

Además de estos estudios in vitro a nivel individual de las sustancias que migran desde el plástico, hay que tener en cuenta que algunas de ellas actúan en sinergia con otras presentes en el medio, potenciando la toxicidad de las mismas (Nerín et al., 2014).

Hay que resaltar que el estudio de sustancias químicas potencialmente tóxicas procedentes de los materiales plásticos en contacto directo con los espermatozoides (células vivas) ha sido pionero en el mundo (Nerín et al., 2014), permitiendo demostrar las causas de la falta de capacidad reproductiva y explicar los fallos detectados en reproducción animal en multitud de granjas.

## CONCLUSIONES

Del estudio realizado queda claro que es extremadamente importante que se controlen cuidadosamente los materiales que se ponen en contacto con el semen, ya sean blíster o tubos de termosellar, puesto que todos ellos pueden ocasionar pérdidas económicas significativas a nivel de productividad en granja. La extensión en la que este daño se produzca dependerá de las sustancias específicas que hayan migrado desde el envase y de la toxicidad de las mismas en contacto directo con el semen. Algunas de las sustancias encontradas migran en concentraciones muy bajas, del orden de pocas ppb ( $\mu\text{g/l}$ ), pero su contacto con el esperma es suficiente como para causar un daño irreparable.

## REFERENCIAS

C. Nerin, P. Alfaro, M. Aznar, E. Canellas, J.L.Ubeda, Y. Dahmani, and R. Ausejo. 2014. Compounds from multilayer plastic bags cause reproductive failures in artificial insemination. *Nature (Scientific Reports) Sci. Rep.* 4, 4913; DOI:10.1038/srep04913 – 2014

Volver a: [Reproducción e I.A. en porcinos](#)