

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

**“Presencia de Residuos de Plaguicidas Organoclorados en  
Leche Cruda de Plantas Lecheras de la IX y X Regiones”**

Tesis presentada como parte de los  
requisitos para optar al grado de  
Licenciado en Ingeniería en Alimentos.

Andrea Lorena Barrientos Casal

VALDIVIA – CHILE

2005

## **PROFESOR PATROCINANTE**

Prof. Manuel Pinto Covarrubias

Profesor de Química, M. Sc.

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Facultad de Ciencias Agrarias

Universidad Austral de Chile

---

## **PROFESORES INFORMANTES**

Luz Haydeé Molina C

Profesor de Química

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Facultad de Ciencias Agrarias

Universidad Austral de Chile

---

Bernardo Carrillo L.

Ingeniero Agrónomo, Master en Ciencia e Ingeniería de los Alimentos

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Facultad de Ciencias Agrarias

Universidad Austral de Chile

---

*A mi Hijo Vicente por el  
tiempo que le perteneció...*

## AGRADECIMIENTOS

*A las primeras personas a quien quiero agradecer es a mis padres en especial a mi madre Lidia, quien con su amor incondicional, apoyo y ayuda absoluto durante todo el proceso de mi vida, he logrado terminar un ciclo importante.*

*A mi hermana Ximena, quien ha estado en los momentos de flaquezas impulsando a continuar hasta terminar las etapas iniciadas.*

*Deseo agradecer además, al profesor Manuel Pinto, quien fue mi profesor patrocinante en el transcurso de la investigación, por su orientación y estímulo, y en la ayuda humana y guía en el transcurso de una buena etapa de mi vida académica.*

*A demás quiero agradecer a cada amiga (o) que ayudo en el largo camino académico, y sobre todo con cuya interacción yo he venido haciéndome persona. Que sin lugar a dudas estarán por siempre en mi corazón... gracias, Andrea, Vivi, Ale,, Eli,... y a todos a quienes falta por nombrar... muchas gracias.*

## ÍNDICE DE MATERIAS

<b>Capítulo</b>		<b>Página</b>
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Antecedentes generales sobre los pesticidas	3
2.2	Definiciones	4
2.3	Generalidades sobre pesticidas	6
2.3.1	Clasificación de pesticidas	7
2.3.2	Pesticidas en el mercado	8
2.4	Pesticidas órganoclorados	9
2.4.1	Estructura química y composición físico-química de los pesticidas órganoclorados	9
2.5	Contaminación ambiental con pesticidas órganoclorados	13
2.6	Presencia de residuos órganoclorados en leche	14
2.6.1	Causas de contaminación de la leche	14
2.6.2	Localización de los pesticidas en la estructura de la leche	17
2.7	Salud pública	18
2.7.1	Toxicidad de pesticidas órganoclorados	18
2.7.2	Efectos de los plaguicidas en la salud	19
2.7.3	Intoxicaciones con pesticidas órganoclorados	20
2.8	Legislación	20
2.8.1	Legislación nacional	21
2.8.2	Legislación internacional	24

3	MATERIAL Y MÉTODO	26
3.1	Origen de las muestras	26
3.2	Tratamiento de las muestras	27
3.2.1	Análisis	27
3.2.2	Materiales	27
3.2.3	Equipos	28
3.2.4	Solución estándar	28
3.2.5	Reactivos	28
3.3	Procedimientos de limpieza de material	29
3.3.1	Procedimientos para la purificación de residuos	29
3.4	Análisis cromatográfico	31
3.4.1	Equipo cromatográfico y condiciones operacionales	31
3.4.2	Detector de captura de electrones (ECD)	31
3.4.3	Condiciones de inyección	31
3.4.4	Recuperación del analito	33
3.4.5	Expresión de resultados	33
3.5	Análisis estadísticos	33
4	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	34
4.1	Pesticidas órganoclorados en leche cruda IX y X regiones	34
4.2	Efecto estacionalidad de pesticidas órganoclorados	42
5	CONCLUSIONES	49
6	RESUMEN	50
	SUMMARY	51
7	BIBLIOGRAFÍA	52
	ANEXOS	61

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Clasificación según su composición química	7
2	Propiedades físico-químicas de los pesticidas organoclorados en estudio y sus aplicaciones	11
3	Límites Máximos de Residuos (LMR) para leche	24
4	Residuos de pesticidas organoclorados presentes en leche cruda, IX región	34
5	Residuos de pesticidas organoclorados presentes el leche cruda, X región	36
6	Valores promedio según estaciones y razón $\bar{x}/\text{LMR}$ en la IX región	43
7	Valores promedio según estaciones y razón $\bar{x}/\text{LMR}$ en la X región	46

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Estructura química de pesticidas órganoclorados en estudio	10
2	Estructura química de HCH	10
3	Vías de contaminación de la leche con pesticidas	16
4	Preparación y llenado de columna cromatográfica	30
5	Cromatograma obtenido con el estándar utilizado	32
6	Representación de la comparación entre las regiones (IX-X) de residuos órganoclorados en estudio	39
7	Representación gráfica de los pesticidas en cada estación, para la IX región	44
8	Representación gráfica de los pesticidas en cada estación, para la X región	48

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo</b>		<b>Página</b>
1	Ejemplo del proceso de cálculo de la concentración de pesticidas.	62
2	Análisis estadísticos para cada uno de los pesticidas en estudio.	63
3	Cromatograma obtenido de una muestra de leche cruda analizada por cromatografía, IX región.	64
4	Cromatograma obtenido de una muestra de leche cruda analizada por cromatografía, X región.	65

## 1 INTRODUCCIÓN

En la agricultura moderna los pesticidas son imprescindibles para el futuro previsible. Sin ellos sería prácticamente imposible producir las enormes cantidades de alimento que se requieren para alimentar el mundo y hacer crecer la población. Sin embargo, hay una creciente preocupación acerca de la seguridad y la calidad del alimento.

Los pesticidas órganoclorados (p.o) conforman un grupo de pesticidas artificiales desarrollados para controlar poblaciones de insectos, los cuales constituyen un campo importante de investigación, debido a la alta probabilidad que éstos puedan producir daño en el ser humano, sabiendo que el principal vehículo son los alimentos de origen animal, por lo que actualmente los residuos de pesticidas en leche y productos lácteos constituyen un campo importante de investigación para controlar que estos alimentos cumplan con la legislación vigente.

El uso excesivo de plaguicidas órganoclorados en prácticas agropecuarias y en el control de enfermedades transmitidas por insectos vectores, son las causas fundamentales de la presencia de éstos en la leche, carnes y vegetales, proceso favorecido además por sus propiedades fisicoquímicas de persistencia, liposolubilidad y bioacumulación.

En el presente trabajo se pretende contribuir al estudio de los residuos de pesticidas órganoclorados en leche cruda, para evaluar la calidad del producto, estableciendo la siguiente hipótesis:

Dadas las características de persistencia de los residuos de p.o, la leche de productores de la, IX y X regiones presenta niveles de pesticidas

órganoclorados superiores a los límites máximos permitidos, según la reglamentación vigente, con el planteamiento de los siguientes objetivos:

### **Objetivo general**

Evaluar el contenido de los pesticidas órganoclorados que se encuentran presentes en la leche cruda de las regiones IX y X.

### **Objetivos específicos**

- Establecer cual de las regiones estudiadas presenta niveles de pesticidas órganoclorados (Aldrín, Dieldrín, Heptacloro, Lindano,  $(\alpha+\beta)$  HCH) objetables, en relación con los niveles establecidos en la legislación vigente.
- Evaluar los niveles de residuos de pesticidas órganoclorados dependiendo la estacionalidad y región del estudio.

## 2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Antecedentes generales sobre los pesticidas

La destrucción de insectos se remonta posiblemente a los tiempos de Grecia y Roma clásicas. En el siglo XVI, los chinos empleaban pequeñas cantidades de compuestos arsenicales como insecticidas. A mediados del siglo XIX, en 1867, los trabajos realizados con estos compuestos se plasmaron en la introducción del verde de París, forma impura del arsénico de cobre, que en Estados Unidos sirvió para el control del escarabajo de la patata (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS), 1992).

Durante la Segunda Guerra Mundial se comienza a utilizar el diclorodifenil-tricloro-etano, mejor conocido como DDT, compuesto órganoclorado dado a conocer por Zeilder en 1874 para proteger a los soldados contra enfermedades graves como el paludismo, tifus exantemático (piojo), como también para combatir moscas, roedores y otras plagas (CARRASCO y PRIMO, 1980).

Con la Segunda Guerra Mundial, los pesticidas órganoclorados en especial comienzan a sintetizarse a escala comercial, siendo usados ampliamente hasta alrededor de la década de los sesenta (FERNICOLA, 1985).

Desde finales de la década de los 40 se han fabricado y liberado al medio ambiente miles de nuevos productos químicos sintéticos. Durante 1960, los científicos estudiaron por primera vez los efectos de algunas de estas sustancias químicas en el medio ambiente, que en la actualidad se conocen con el nombre de Compuestos Orgánicos Persistentes, y comprobaron que

ocasionaban graves impactos a largo plazo en humanos y en la naturaleza (RAP-CHILE)<sup>1</sup>

Durante los dos decenios siguientes a 1970 aparecieron muchos plaguicidas nuevos, en base a los conocimientos obtenidos. Los ejemplos más representativos de esta nueva generación de agroquímicos son los herbicidas sulfoniureas y los nuevos funguicidas sistémicos, tales como el metalaxilo y el triadimefon. Un nuevo e importante grupo de insecticidas comprende a los piretroides sintéticos fotoestables, obtenidos a partir de piretrinas naturales (OMS, 1992)

El desarrollo de los pesticidas permitió el control de las plagas, pestes y enfermedades, y generó un notable rendimiento de las cosechas. En los primeros momentos no se sospechaba las consecuencias de su aplicación. En 1970 el uso de los pesticidas en cualquier parte y para cualquier propósito estaba abierto a un serio debate<sup>2</sup>.

## 2.2 Definiciones

Con el nombre de pesticidas son designados un conjunto de compuestos químicos que se emplean contra plagas o parásitos, en las explotaciones agropecuarias o en la industrialización de productos.

A continuación se definen algunos términos que son relevantes en el presente estudio.

**a. Pesticidas.** “Un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies de

---

<sup>1</sup> Disponible en: [www.rap-chile.com/pops.html](http://www.rap-chile.com/pops.html)

<sup>2</sup> Disponible en: [www.iespana.es/natureduca/conserva\\_historia4.htm](http://www.iespana.es/natureduca/conserva_historia4.htm)

plantas o animales indeseables que causan perjuicio o que interfieren de cualquier forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladoras del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o agentes para evitar la caída prematura de la fruta, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte”. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO), (2002).

- b. Residuos de plaguicidas.** “Cualquier sustancia específica presente en o sobre los alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales como consecuencia del uso de un plaguicida. El término incluye cualquier derivado de un plaguicida, como productos de conversión, metabolitos, productos de reacción, e impurezas consideradas de importancia toxicológica”. El término “residuo de plaguicidas” incluye tanto los residuos de procedencia desconocidas o inevitables (por ejemplo, ambientales), como los derivados de usos conocidos de la sustancia química. (FAO, 2002)
- c. DL<sub>50</sub>.** Para determinar la toxicidad aguda de un compuesto, se definió el término DL<sub>50</sub>, y se entiende como tal a la concentración media de un tóxico letal suficiente o capaz de matar el 50 % de una muestra de individuos de una especie (THORNHILL y MATTHEWS, 1996)
- d. IDA.** “La “Ingesta Diaria Aceptable” (IDA), corresponde a la dosis diaria de un compuesto químico expresada en mg/Kg de peso corporal que puede

ser ingerido toda la vida por una persona, sin riesgos apreciables para su salud, sobre la base de las experiencias existentes” (CODEX ALIMENTARIUS, 1992)

- e. **Límite máximo para residuos de plaguicidas (LMR).** “La concentración máxima de un residuo de plaguicida que se permite o reconoce legalmente como aceptable en o sobre un alimento, producto agrícola o alimento para animales”. (FAO, 2002)
  
- f. **Buenas prácticas agrícolas (BPA).** Para el uso de plaguicidas. Es el inocuo autorizado a nivel nacional, en las condiciones existentes, de los plaguicidas necesarios para un control eficaz y confiable de las plagas. Comprende variados niveles de aplicación de plaguicidas hasta la concentración mínima posible del residuo. El uso inocuo autorizado es determinado a nivel nacional y entregan usos recomendados en el país que tiene en cuenta las consideraciones de salud pública y profesional, y la seguridad del medio ambiente (CODEX ALIMENTARIUS, 1992).

### 2.3 Generalidades sobre pesticidas

Los agroquímicos, y en particular los plaguicidas, han llegado a ser una parte integral de los sistemas modernos de agricultura, contribuyendo significativamente a mejorar el rendimiento de las cosechas. A pesar de su significativa contribución, producen residuos indeseables en el medio ambiente . Además, han traído consigo un conjunto de efectos económicos y ambientales como la destrucción del 40 % del potencial de la producción agrícola a escala mundial, así como la disminución de las plagas, provocando resurgimiento y aparición de nuevas plagas, y contaminación de suelos y aguas (PIMENTEL, 1998).

**2.3.1 Clasificación de pesticidas.** La composición química, es un parámetro que clasifica a los pesticidas en: insecticidas, herbicidas y funguicidas (CUADRO 1).

**CUADRO 1. Clasificación según su composición química.**

<b>Insecticidas</b>	<b>Herbicidas</b>	<b>Funguicidas</b>
Organoclorados (Aldrín, Dieldrín, DDT)	Dinitrofenoles	Compuestos de cobre, azufre
Organofosforados (Parathión, Gosathi)	Triazinas	Fenoles
Carbamatos (Servin, Furadan)	Acidos Tricloroacéticos	
Piretroides (Ambush, Plietran)		

FUENTE: FAO (1991).

Basualto, citado por WISTUBA (1991), los clasifica en base al tiempo de acción en :

- a. No persistentes: (1-12 semanas), Ej.: Organofosforados y carbamatos.
- b. Moderadamente persistentes: (1-8 meses), Ej.: la mayoría de los herbicidas.
- c. Persistentes : (2-5 años), Ej.: hidrocarburos clorados. (Aldrín, Dieldrín, etc)
- d. Permanentes : No tienen degradación, por lo tanto, su duración real es indefinida, Ej.: mercurio y plomo (tóxicos metálicos)

Según su capacidad de degradación (importante en la contaminación ambiental, y por ende en Salud Pública), los pesticidas se pueden clasificar en dos grandes grupos:

- a. Pesticidas degradables:** son aquellos que por diversos procesos biológicos y/o químicos naturales, son rápidamente desintegrados en la atmósfera, el suelo o el tubo digestivo del hombre y animales. La gran ventaja que los diferencian de los no degradables, es la no acumulación en el organismo de los consumidores, no constituyendo por ende un riesgo de intoxicación por acumulación. (GOURDSAUD *et al.*, 1971).
- b. Pesticidas no degradables:** son aquellos que por sus características químicas son capaces de acumularse en los organismos que lo consumen. Es el caso de los compuestos órganoclorados, que por ser liposolubles son capaces de acumularse en el tejido graso de animales y vegetales (GOURDSAUD *et al.*, 1971).

**2.3.2 Pesticidas en el mercado.** De acuerdo con la información proporcionada por el SAG en Chile, se estima que un 94% de los plaguicidas de uso fitosanitario ingresan por vía importación y el 6% corresponde a formulaciones nacionales (4.500.000 litros y/o kilos anuales). Se calcula que el consumo nacional de plaguicidas es de 20.000 toneladas para uso agrícola y 4000 toneladas para uso domisanitario ( domicilio). Desde el punto de vista de uso agrícola, la concentración de uso de estos plaguicidas se centra entre las regiones 3<sup>a</sup> y 10<sup>a</sup>, en Chile. Las autorizaciones de ingreso de plaguicidas en Chile están diferenciadas, los de tipo fitosanitarios, es decir de uso agrícola son autorizados sus registros por el Servicio Agrícola y Ganadero, dependiente del Ministerio de Agricultura. Las autorizaciones de los plaguicidas de uso domisanitario son a través del Instituto de Salud Pública, dependiente del Ministerio de Salud (SAG)<sup>3</sup>

---

<sup>3</sup> Dponible en: [www.msal.gov.ar/htm/site/pdf/chile-Informe.pdf](http://www.msal.gov.ar/htm/site/pdf/chile-Informe.pdf)

## 2.4 Pesticidas órganoclorados

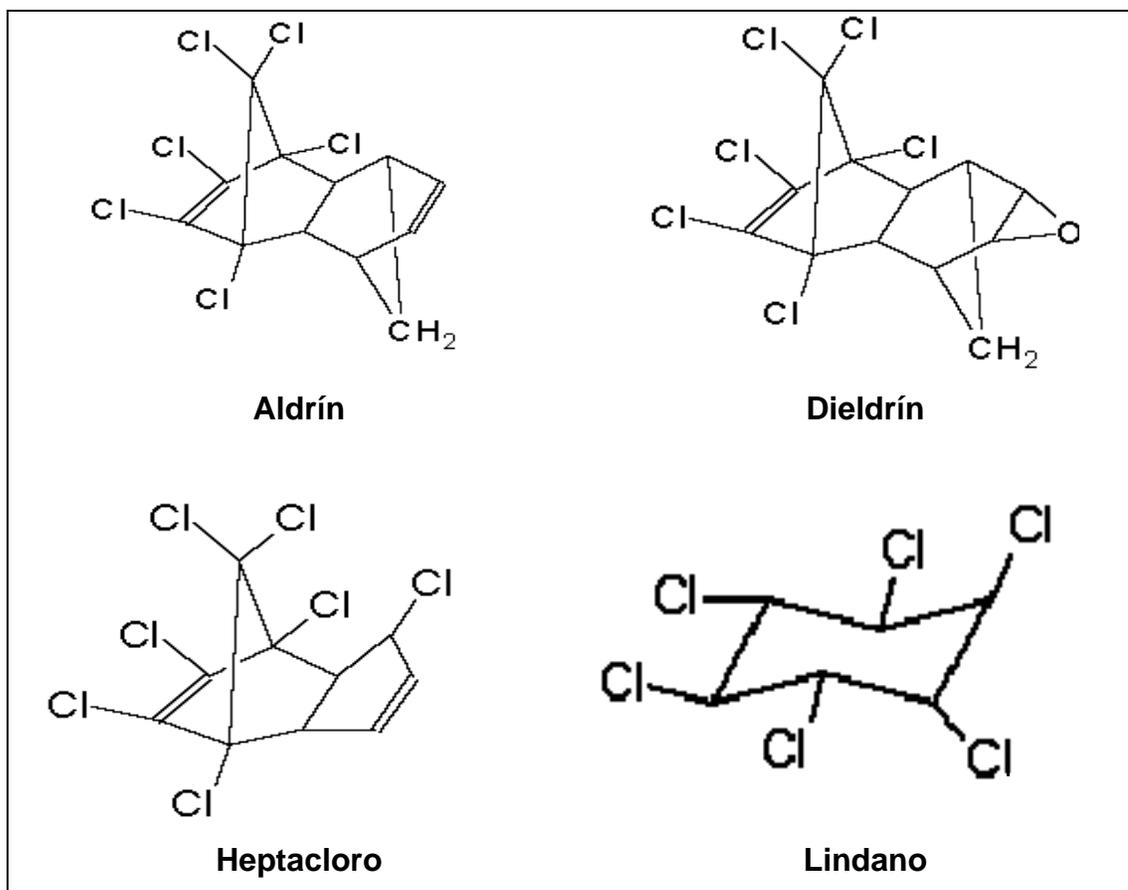
En general, los pesticidas órganoclorados son compuestos orgánicos cíclicos o condensados en los cuales el cloro se encuentra en una porción promedio de 60% del peso molecular. Estos se diferencian en cuanto a las características de persistencia y toxicológicas, efectividad determinada y conducta residual (SNELSON y TUINSTRA, 1979). Son esencialmente insecticidas que actúan por contacto o ingestión. Sus propiedades principales son una gran estabilidad, gran persistencia asimismo una fuerte solubilidad en las materias grasas (LUQUET *et al.*, 1974). En esencia, son hidrocarburos con alto contenido de átomos de cloro y han sido los insecticidas más criticados por los grupos ecologistas. El DDT fue casi un símbolo de veneno químico, debido a su difícil degradación y su gran acumulación en el tejido animal (TRICÁRICO)<sup>4</sup>

**2.4.1 Estructura química y composición físico-química de los pesticidas órganoclorados.** Los p.o son moléculas orgánicas con sustituyentes de cloro en varios lugares de su estructura, cuyo número y localización son determinantes en la mayor o menor facilidad de degradación del compuesto. Como regla general cuanto más sustituido menos degradable. Son conocidos tanto los mecanismos de acción como los productos de degradación. La clasificación según la estructura química de los pesticidas órganoclorados en estudio esta dada por ser ciclodienos clorados (Aldrín, Dieldrín, Heptacloro, etc.) y los hexaclorociclohexanos (( $\alpha+\beta$ ) HCH y  $\gamma$ - HCH (lindano))<sup>5</sup>

---

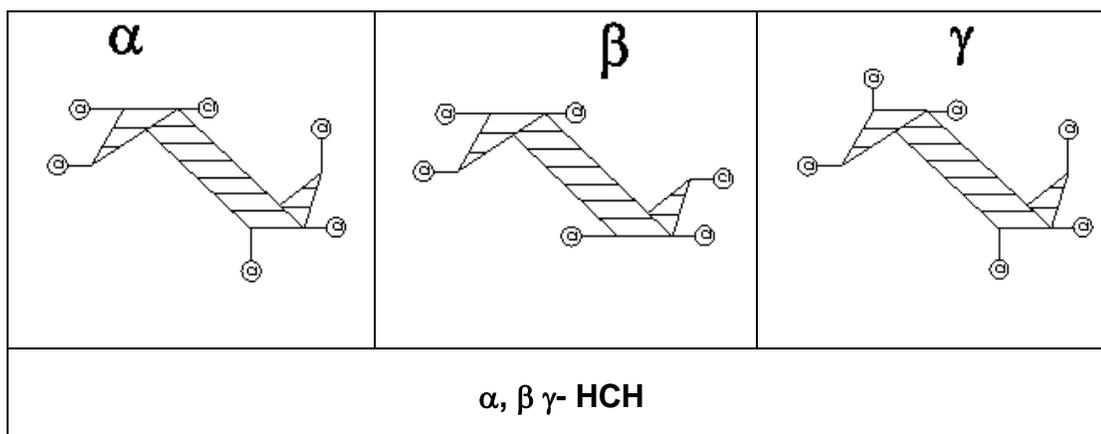
<sup>4</sup> Disponible en: [www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/organoclor.htm](http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/organoclor.htm)

<sup>5</sup> Disponible en: [www.investigadores.uncoma.edu.ar/Libiquima-Lpe/Quimica/Libiquima/Plaguicidas/Tesis/TesisLoewy.pdf](http://www.investigadores.uncoma.edu.ar/Libiquima-Lpe/Quimica/Libiquima/Plaguicidas/Tesis/TesisLoewy.pdf)



**FIGURA 1.** Estructura química de pesticidas órganoclorados en estudio.

FUENTE: [www.chem.unep.ch/pops/indxhtmls/asses6.html](http://www.chem.unep.ch/pops/indxhtmls/asses6.html)



**FIGURA 2.** Estructura química de HCH.

FUENTE: [http://www.ihobe.es/Infraestructuras/HCH/T\\_T\\_hch\\_residuos.htm](http://www.ihobe.es/Infraestructuras/HCH/T_T_hch_residuos.htm)

Las principales características y propiedades físico-químicas de los pesticidas órganoclorados del presente estudio, se muestran a continuación en el CUADRO 2

**CUADRO 2. Propiedades físico-químicas de los pesticidas órganoclorados en estudio y sus aplicaciones.**

NOMBRE COMÚN	PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS(1)	APLICACIONES(2)
ALDRÍN	Sólido cristalino, P.F 104-104,5°C P <sub>v</sub> 8,6 mPa (20 °C) Solubilidad: 0,027 mg/L agua (20 °C) Soluble en acetona, benceno, xileno.	Control de insectos en el suelo en trigos, cereales, maíz, raps, maravilla y remolacha azucarera.
DIELDRÍN	Sólido cristalino, P.F 176°C P <sub>v</sub> 10 <sup>-6</sup> mbar (20 °C) Solubilidad: menos de 0,1 mg/L agua (20 °C) Soluble en acetona, benceno, tolueno.	Insecticida versátil, utilizado en la agricultura e industria, y situaciones en Salud Pública. Efectivo en el control de insectos del suelo(termitas, (langostas, pilmes, etc.)
LINDANO	Sólido cristalino, P.F 112,5-113,5°C P <sub>v</sub> 1,2x10 <sup>-5</sup> mbar (20 °C) Solubilidad: 10 mg/L agua (20 °C) Soluble en ciclohexano, acetona, ácido acético	Aplicación para control de insectos de suelo de un amplio espectro. Usado en fitófagos, ectoparásitos en animales, y pestes de Salud Pública. Usado para el control de roedores.
HEPTACLORO	Sólido cristalino, P.F 95-96°C (puro) P <sub>v</sub> 4x10 <sup>-4</sup> mbar (25 °C) Solubilidad: insoluble en agua Soluble en acetona, benceno, xileno.	Utilizado en el tratamiento de suelos, semillas o directamente al follaje. Puede ser aplicado al control de insectos en hogares y pestes en hombres y animales. También es utilizado en el control de termitas.
HEXACLOROCICLO-HEXANO (HCH)	Sólido cristalino, P.F 193-193,5°C P <sub>v</sub> 8,6 mPa (20 °C) Solubilidad: 2,67mg/L agua (20 °C) Soluble en acetona, benceno, xileno.	Insecticida para combatir plagas succionadoras y mordedoras en fruticultura, horticultura, agricultura y silvicultura también se utiliza para combatir plagas en tanques para el almacenamiento de alimentos en la higiene humana y animal

FUENTE: (1) THE ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY (1983).

(2) Waring, Ch y Walker, S.B, citado por BRAVO (1987).

Compuestos como Aldrín, Clordano, Dieldín, Endrín, Heptacloro, HCH (hexaclorociclohexano), Lindano y Toxafeno son órganoclorados integrantes de la llamada “docena sucia” que engloba a aquellos pesticidas que más problemas ambientales han generado. Actualmente los órganoclorados están prohibidos en casi todo el mundo y para casi todos los usos, debido a sus problemas de acumulación, a su alta estabilidad química, su gran estabilidad a la luz y su difícil degradación biológica (TRICÁRICO)<sup>6</sup>

Además, estos insecticidas se caracterizan por sus propiedades toxicológicas, especificidad y carácter residual, entre otras. El uso de pesticidas órganoclorados ha sido prohibido y restringido en el entorno del ganado bovino de muchos países. Como se ha mencionado se pueden producir contaminaciones en el ganado bovino por causas como: control de parásitos en el animal, control de insectos en los establos, alimentos, (pradera, heno, ensilaje, concentrados, etc.), contaminación ambiental, (agua, suelo, aire) entre otros. (LUQUET *et al.*, 1974; SNELSON y TUINSTRA, 1979; BLÜTHEN *et al.*, 1984). Estos residuos se concentran tanto en el tejido graso del animal como en la leche del ganado bovino y su nivel dependerá de la cantidad ingerida o aplicada y el tipo de compuesto involucrado (MONTES *et al.*, 1986; PINTO *et al.*, 1987; TAMAYO *et al.*, 1987)

La necesidad por mantener abastecidos de alimentos a la población implica priorizar el uso de pesticidas para la protección agrícola, forestal, y producción animal. Por esta razón, los países, incluido Chile, han regulado su uso en territorio nacional.(PARATORI, 1999)

Los pesticidas órganoclorados generan residuos amenazantes para la vida con gran toxicidad biológica y alta persistencia, durante años, esta ha servido

---

<sup>6</sup> Disponible en: <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Organoclor.htm>

en la aplicación de restricciones en su uso y producción en muchos países (PARATORI, 1999)

Sus residuos se acumulan en tejidos adiposos a través de todo el cuerpo, debido a su estabilidad química y de persistencia y puede ser excretada durante la lactación (WALISZEWSKI *et al.*, 2003)

## **2.5 Contaminación ambiental con pesticidas órganoclorados**

Los p.o constituyen un grupo de contaminantes orgánicos que suponen un riesgo potencial para el ambiente, por su persistencia dentro del ecosistema. Aún cuando estos compuestos han aumentado las producciones agrícolas y ayudado con el control de enfermedades, el uso de estos pesticidas generan efectos potenciales adversos a la salud humana en pequeñas dosis por periodos prolongados.(LARA *et al.*, 2000)

Los p. o han sido usados en la agricultura para las siembras, en programas de sanitización, control de malaria y en el combate de parásitos en el ganado, acumulándose sus residuos, por la estabilidad química y persistencia, en tejidos adiposos, circulando así, por el cuerpo para luego ser excretado durante la lactación. (WALISZEWSKI *et al.*, 2003)

Estos compuestos órganoclorados son muy tóxicos y de origen antropogénico, lo que los hace una seria amenaza al ambiente y por ende a la salud pública. Estos compuestos son una problemática especial, debido a su persistencia en el ambiente, viajando además por todas partes del mundo, envenenando al hombre y a la fauna (CERKVENIK *et al.*, 2000).

Los riesgos ecológicos, por lo general, son juzgados basándose en el efecto sobre los organismos o la comunidad de poblaciones y en los valores finales,

como la concentración letal media ( $CL_{50}$ ), calculados a partir de ensayos ecotoxicológicos (WINTERS, 1998).

La presencia de residuos de pesticidas clorados en el ambiente asociado a un conocimiento existente de sus efectos colaterales no deseados sobre los seres vivos, necesariamente hace pensar que también están afectando comunidades silvestres, menoscabando su potencial biótico e incluso haciendo peligrar la supervivencia de algunas especies. (CARRASCO y PRIMO, 1980).

## **2.6 Presencia de residuos órganoclorados en leche**

La leche bovina sirve como vector para la transmisión de sustancias potencialmente tóxicas para el consumidor, esto debido a la dieta consumida, que contiene ingredientes que han sido contaminados por los pesticidas de alguna manera, sabiendo que es transmitido en la leche (LIENER, 2002). Estos residuos de pesticidas bajo condiciones ambientales son altamente estables, además de ser altamente solubles en la grasa, así la principal bioacumulación es a través de la cadena alimentaria (KALANTZI *et al.*, 2001).

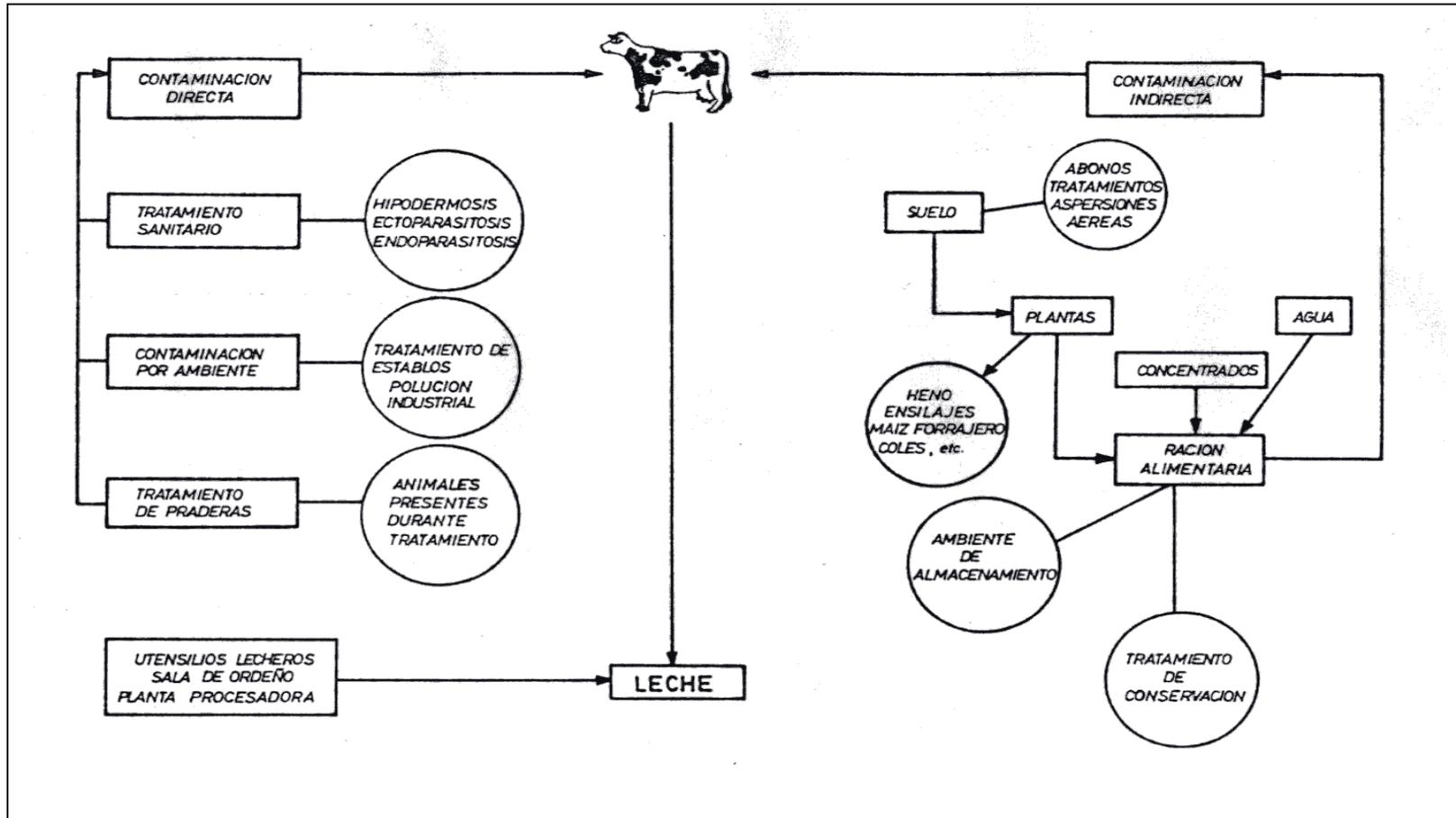
**2.6.1 Causas de contaminación de la leche.** Los animales viven en áreas donde los pesticidas son rociados para la agricultura sobre las praderas o con propósitos sanitarios, o simplemente están expuesto en los alimentos contaminando por inhalación e ingesta de dichos pesticidas, en este caso los órganoclorados. Debido a su persistencia, estabilidad química y solubilidad lipídica, los p.o han sido una constante contaminación que tiende a acumularse en los tejidos grasos de los organismos (TRAVIS *et al.*, 1988; WALISZEWSKI *et al.*, 2003).

Específicamente en relación con el ganado vacuno lechero cabe mencionar que entre las principales causales de contaminación con residuos de p. o, figuran: los alimentos para uso animal (pradera, heno, concentrado, ensilaje, otros); control de parásitos en el animal; control de insectos en los establos; contaminación ambiental (agua, suelo, aire), entre otras (BLÜTHGEN *et al.*, 1984; PINTO *et al.*, 1987).

Estos agroquímicos se acumulan en la porción lipídica de los seres vivos, por la ingesta prolongada de dosis pequeñas de estos p.o. Estos residuos han mostrado su acumulación dentro de tejidos grasos de humanos y animales. (LARA *et al.*, 2000).

Las causas fundamentales de la presencia de residuos de plaguicidas órganoclorados en la leche son sus propiedades fisicoquímicas de persistencia, liposolubilidad y bioacumulación así como el uso excesivo de estos compuestos en las prácticas agropecuarias (PINTO *et al.*, 1990a) y el uso en el control de enfermedades transmitidas por insectos vectores (DHALIWAL, 1990; RODRÍGUEZ *et al.*, 1994 y HERNÁNDEZ y PÉREZ, 1995). Estas actividades antropogénicas han traído como consecuencia la contaminación de los sustratos bióticos y abióticos, ya que al dispersarse entran a las cadenas tróficas donde se bioacumulan y el ganado expuesto a estos sustratos elimina residuos de plaguicidas o algún derivado de su biotransformación a la leche (PRADO *et al.*, 1998). (Ver FIGURA 3).

Debido a la importancia de la contaminación de la leche vía ingestión de alimentos, un gran número de países especifican el límite de tolerancia para pesticidas en los alimentos para animales. Esta parece ser una saludable medida, la cual puede ayudar a reducir los niveles de residuos en la leche, (DOWNEY, 1972)



**FIGURA 3. Vías de contaminación de la leche con pesticidas.**

FUENTE: Luquet *et al.*, citado por BRAVO (1987).

HEESCHEN y NIJHUIS (1983), analizaron el problema de la contaminación de la leche con HCH por alimentación en base a resultados experimentales. La porción de  $\alpha$  y  $\beta$ -HCH que pasa desde el alimento a la leche es generalmente entre un 30% y 50% (en algunos casi llegó a 100%) y es mucho más elevado que en el caso del  $\gamma$ -HCH. Esto indica que la mantención de los niveles admisibles en leche no podrá garantizarse mientras los niveles de  $\gamma$ -BHC en los alimentos no estén bajo 0,01 ppm base grasa láctea.

Los alimentos de origen animal como leche y carne se consideran la mayor fuente de residuos de estos plaguicidas en la alimentación humana (PRADO *et al.*, 1998).

**2.6.2 Localización de los pesticidas en la estructura de la leche.** “Es interesante conocer la ubicación de los pesticidas dentro de la compleja estructura de la leche, dado que los métodos analíticos de detección y los procesos industriales tendientes a destoxificar este producto dependen de ello” (BRAVO, 1987)

Debido a que la mayoría de los pesticidas órganoclorados son liposolubles, estos han sido encontrados más frecuentemente en la porción grasa de los alimentos, y por ende su ubicación en la leche será probablemente similares a productos tales como el colesterol, carotenoides y vitamina A (ANG y DUGAN, 1973; LUQUET *et al.*, 1974). Por esto es factible que los pesticidas se encuentren al interior del glóbulo graso, otros en la superficie enlazados a proteínas de la membrana, al mismo tiempo, una ínfima fracción se ubicaría en la solución o unida a componentes solubles de la leche (MÉNDEZ *et al.*, 1979).

## 2.7 Salud pública

Los pesticidas órganoclorados constituyen un grupo de contaminantes químicos que proponen un potencial riesgo para el ambiente, por las características de alta persistencia dentro del ecosistema y por consiguiente para en hombre. La preocupación del hombre ha ido en aumento respecto al uso indiscriminado durante mucho tiempo de los p.o, esto debido a que algunos p.o han sido identificados en las alteraciones hormonales, que son capaces de afectar la función normal endocrina y sistemas reproductivos de humanos y de la fauna, además de sus efectos carcinógenos, mutagénicos entre otros (WOLFF y TONIOLO, 1995; GOLDEN *et al.*, 1998; HOSIE *et al.*, 2000)

**2.7.1 Toxicidad de pesticidas órganoclorados.** Desde el punto de vista de la toxicidad de estos productos hacia los animales de sangre caliente, pueden agruparse en tres categorías:

- a) Categoría I : Altamente tóxicos.
- b) Categoría II : Medianamente tóxicos.
- c) Categoría III : Baja toxicidad.

Los plaguicidas, de acuerdo a sus ingredientes activos, tienen una alta probabilidad de permanecer en el medio sobre el cual fueron aplicados, los que quedan como residuos en aguas, pastos, y se introducen en el organismo humano vía alimentos, donde pueden tener efectos cancerígenos, mutagénicos o teratogénicos. Se destaca el extraordinario aumento del consumo y producción de plaguicidas y los fuertes intereses económicos presentes tras su uso, fabricación y comercialización (UTRERAS, 1991).

Los plaguicidas son biocidas y, por lo tanto, sustancias tóxicas. Su toxicidad ha sido confirmada por diferentes estudios: inducen actividad enzimática,

mediante radicales libres, afectan los procesos reproductivos, alteran el metabolismo lipídico, alteran la respuesta inmunológica, el transporte de vitaminas y de glucosa. Algunos son considerados mutagénicos, teratogénicos o carcinogénicos (LARSEN, 1988; HEESCHEN y BLÜTHGEN, 1991), no sólo en la especie humana, sino también en las comunidades bióticas con diferentes niveles de sensibilidad. (PRADO *et al.*, 2003).

La toxicidad de estos residuos es diversa, así como también los efectos. Los residuos se acumulan en los tejidos grasos, afectando órganos vitales como tiroides, corazón, riñones, hígado, glándulas mamarias y testículos. También han sido investigados los efectos al sistema cardiovascular, respiratorio y genotóxico (KALPANA, 1999). Estos residuos pueden transferirse al cordón umbilical y por medio de la alimentación a recién nacidos, vía leche materna.(PANDIT *et al.*, 2002).

**2.7.2 Efectos de los plaguicidas en la salud.** Según FAO/OMS (1991), la acción tóxica se produce cuando el agente químico o una forma bioactiva de éste alcanza el sitio de acción (o receptor primario) y ocasiona un daño bioquímico, que se revela en un organismo vivo, mediante señales y síntomas que caracterizan la intoxicación. Por otro lado la intoxicación es definida como la manifestación clínica de un estado fitopatológico más o menos grave, según el tipo y concentración del agente químico, en el lugar de acción.

Cabe señalar que la intoxicación depende de la toxicidad del pesticida, la cual puede ser de tipo aguda si penetra en el organismo una cantidad excesiva de sustancias tóxicas en un corto tiempo; o crónica, si penetran al organismo pequeñas cantidades, en ocasiones repetidas durante largo tiempo. En este último caso se deben considerar problemas que puedan producirse a largo plazo (años) como son neurotoxicidad, carcinogenicidad,

teratogenicidad, mutagenicidad, alteraciones hormonales, hepatotoxicidad, alteraciones del sistema inmune, etc. (LOMBERA, 1994).

En los casos de toxicidad crónica deben conocerse la Ingestión Diaria Aceptable (IDA) y los niveles de residuos tolerables en alimentos, lo que permitirá, en base a los estudios de degradación del producto, establecer los tiempos que deben transcurrir entre el tratamiento y la recolección o consumo del producto con el objeto de prevenir riesgos de contaminación.

**2.7.3 Intoxicaciones con pesticidas órganoclorados.** La Organización Mundial de la Salud ha estimado que cada año se producen en el mundo alrededor de un millón de intoxicaciones agudas por exposición a plaguicidas, con una letalidad entre el 0,4 y el 1,9%. Por otra parte, la exposición a bajas dosis de plaguicidas se ha relacionado con una variedad de trastornos a medio y largo plazo, incluyendo diferentes tipos de cáncer, alteraciones de la reproducción y alteraciones del sistema nervioso, entre otros problemas. (GARCÍA *et al.*, 2002)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó en 1973, en más de 500.000 las intoxicaciones anuales por plaguicidas en el mundo, con una tasa de letalidad de 1%. Además, en los países en desarrollo, cada año ocurren unos 375.000 casos agudos de intoxicación por plaguicidas con unas 10.000 defunciones (UTRERAS, 1991).

## **2.8 Legislación**

Áreas de la legislación nacional, regional e internacional, orientadas a la protección del medio ambiente. Los elementos claves de la legislación sobre el medio ambiente incluyen el control de la contaminación producida por el ser humano y la protección de recursos naturales como la fauna, flora y el paisaje, pero las fronteras exactas del problema son difíciles de delimitar y

otras muchas áreas de la legislación, como las referentes a la salud y a la seguridad en el trabajo, la planificación del uso del suelo y la protección de la herencia cultural, tienen implicaciones ambientales. Hay ejemplos de legislación sobre el medio ambiente que se remontan a los tiempos de los romanos y de la edad media que hoy figuran en las leyes nacionales de casi cualquier país, aunque su alcance y grado de detalle varían considerablemente. Constituye uno de los campos legislativos de más rápido crecimiento a nivel mundial. Se emplean varios tipos de enfoque legal que incluyen la prohibición o restricción del uso de ciertas sustancias y la determinación de estándares para los productos. Probablemente, el método más utilizado de regulación ambiental sea la exigencia de licencias u otras formas de autorización para llevar a cabo ciertas actividades, como el vertido de efluentes en el agua o la eliminación de residuos. La implantación eficaz de las leyes ambientales sigue siendo un problema en muchas jurisdicciones, y hoy en día, se presta mayor atención al uso de mecanismos económicos, por ejemplo impuestos especiales, como medio para reforzar o reemplazar sistemas más convencionales de regulación ambiental (FAO)<sup>7</sup>

**2.8.1 Legislación nacional.** El Ministerio de Agricultura dictó inicialmente una resolución en el año 1977 que prohibió el uso del DDT en empastadas y cultivos afines, que fue reiterada en 1983 cuando se restringe la aplicación de DDT, Aldrín, Endrín, Clordano y Heptacloro, prohibiendo su uso en empastadas de la IX Región de la Araucanía y X Región de Los Lagos, y en todo subproducto vegetal susceptible de usarse en alimentación vacuna. Sin embargo, esta resolución no fue acatada por una gran mayoría de agricultores que continuaron con el uso intensivo de DDT y de otros clorados. Así lo constataron el Ministerio de Agricultura y el de Salud a través de análisis de suelos y estudios de residuos de DDT en leche de vacas y en

---

<sup>7</sup> Disponible en: [www.fao.org/ag/esp/revista/9906.htm](http://www.fao.org/ag/esp/revista/9906.htm)

leche materna. Esto motivó, entre otras causas, la prohibición total del DDT y los drines (Aldrín + Dieldrín) en la década de los años ochenta.

La legislación que regula el uso de plaguicidas tiene como objetivo proteger tanto a los usuarios de estos productos como a la población en general, los consumidores, los animales domésticos y al medio ambiente, además, de asegurar al usuario la eficacia en el control de la (s) plaga (s) de acuerdo a los antecedentes que presentó el fabricante o importador al momento de solicitar la evaluación y autorización del plaguicida al Servicio Agrícola y Ganadero.

Las áreas que se encuentran normadas son la importación, fabricación y/o formulación, transporte, venta, almacenamiento, uso, manejo y aplicación.

En Chile, estas regulaciones se encuentran en varios ministerios y ellas van desde leyes que rigen para todo el país, así como algunos decretos y resoluciones que rigen a nivel nacional o regional.

El Servicio Agrícola y Ganadero, SAG, organismo dependiente del Ministerio de Agricultura, es la entidad encargada por ley de reglamentar y controlar los diversos aspectos que tienen relación con la fabricación y/o formulación, importación, distribución, venta y aplicación de los plaguicidas de uso agrícola. Esta legislación se encuentra en el Decreto Ley N° 3.557, publicado en el Diario Oficial de fecha 09/02/81.

El SAG ha dictado diversas disposiciones dirigidas a establecer regulaciones, restricciones y prohibiciones que se han considerado necesarias para propender al empleo correcto y eficiente de estos productos en la protección de los cultivos, con riesgo mínimo para la salud humana, la fauna, la flora y el medio ambiente.

El SAG puede prohibir la importación, fabricación, venta y uso de los plaguicidas autorizados si existe información que indique que estos productos presentan un riesgo para la salud de las personas, animales y medio ambiente. También, si la presencia de residuos de estos plaguicidas constituye una limitación para las exportaciones de origen animal o vegetal.

Dieldrín, Endrín, Heptacloro y Clordán (Resolución N 2.142 del 19/10/87), Aldrín (Resolución N° 2.003 del 22/11/88) y Lindano para uso agrícola (Resolución N° 2180 del 17/07/98), son algunos de los muchos pesticidas órganoclorados que han sido prohibidos en su uso<sup>8</sup>.

En cuanto a los productos de consumo interno, la legislación chilena establece que es el Ministerio de Salud, a través de sus Servicios, el encargado de controlar el estado sanitario de los alimentos que consume la población. En este sentido, el Ministerio de Salud sigue las recomendaciones de la FAO/OMS respecto de las tolerancias máximas permisibles para plaguicidas en alimentos, teniendo en la actualidad fijada las tolerancias para 66 plaguicidas. Las regulaciones específicas sobre aplicación de plaguicidas se encuentran en el D.S. 567 del Ministerio de Agricultura de 1964. De acuerdo al art. 31, Carabineros de Chile deberá llevar un libro especial de control de aplicación de plaguicidas en los predios cercanos (UTRERAS, 1991).

En CHILE, el MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA (1999), en su resolución exenta N° 581, publicada en el Diario Oficial de 06 de marzo de 1999, considerando la necesidad de ejercer un control sobre los residuos de pesticidas en los alimentos por la trascendencia que estas sustancias químicas pudieran tener para la salud humana al exceder determinadas concentraciones; que muchas de estas sustancias son potencialmente

---

<sup>8</sup> Disponible en: [www.sag.gob.cl/contenedrotmp/Manual\\_de\\_Capacitacion.pdf](http://www.sag.gob.cl/contenedrotmp/Manual_de_Capacitacion.pdf)

peligrosas por cuanto, algunas de ellas pueden provocar efectos inmediatos en la salud humana y otros efectos retardados por la acumulación en el organismo y teniendo presente las recomendaciones de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) en esta materia, fijó tolerancias máximas de pesticidas en los alimentos de consumo interno. Los valores establecidos para leche y productos lácteos están presentes en el CUADRO 3.

**CUADRO 3. Límites máximos de residuos (LMR) para leche.**

<b>Plaguicidas</b>	<b>Límite Máximo de Residuos (LMR)</b>
Aldrín y Dieldrín	0,006
Heptacloro	0,006
Lindano	0,001
( $\alpha+\beta$ ) HCH	0,003*

FUENTE: CHILE, MINISTERIO DE SALUD (1999).

\* Republica Federal Alemania. Límite oficial: 1979, LMR: 0,10 mg/Kg base grasa, transformado a mg/Kg leche (leche 30g/L)

El Decreto Ley N° 3557, de 1980, del Ministerio de Agricultura, permite al SAG regular, restringir, prohibir la fabricación, importación, distribución, venta y aplicación de los plaguicidas, fundándose para ello en razones técnicas. El SAG también está facultado para fiscalizar que la aplicación de plaguicidas sea realizada de forma que los residuos de éstos se mantengan dentro de los rangos permitidos en las normativas vigentes, como no peligrosos para los consumidores, y que correspondan a plaguicidas que no estén prohibidos o que puedan ser objetados (UTRERAS, 1991).

**2.8.2 Legislación internacional.** Las normas internacionales para los residuos, la Comisión del Codex Alimentarius (código sobre los alimentos) fija criterios normativos para todas las naciones. Fue creada por dos

organizaciones de las Naciones Unidas: la FAO y la OMS, y está formada por comités encargados de diferentes aspectos alimentarios. El Comité del Codex sobre Residuos de Plaguicidas se encarga de los residuos de plaguicidas en los alimentos, y basa sus tareas en las aprobaciones científicas del grupo de expertos independientes: la Conferencia Mixta FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas<sup>9</sup>

El Organismo Internacional de Energía Atómica y la FAO han puesto en marcha un programa de investigación para ayudar a los países en desarrollo a vigilar la presencia de residuos químicos en el ganado y en los productos ganaderos (FAO)<sup>10</sup>

---

<sup>9</sup> Disponible en: <http://www.pan-uk.org/Internat/IPMinDC/Spanish8.pdf>

<sup>10</sup> Disponible en: [www.fao.org/ag/esp/revista/9906.htm](http://www.fao.org/ag/esp/revista/9906.htm)

### 3 MATERIAL Y METODO

El presente estudio se llevó a efecto en el Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL) junto con en el Laboratorio de Fitoquímica, ambos pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agrarias y dependientes de la Universidad Austral de Chile, y los análisis cromatográficos en el Laboratorio de Ciencias.

#### 3.1 Origen de las muestras

Las muestras de leche cruda fueron recolectadas durante el año 1998, a silos de plantas lecheras de la IX y X regiones las que fueron tratadas para extraerle la grasa, grasa con la que se realizó el presente estudio, consideraron dos industrias lecheras representativas en cada una de las dos regiones investigadas (IX y X).

Se realizó un muestreo mensual y durante un año de la leche cruda de 4 plantas lecheras de las Regiones IX y X, dos plantas lecheras en cada región (n=24 en cada región), obteniéndose como total de muestras n =48. Las muestras fueron tomadas conforme a las recomendaciones de la Federación Internacional de Lechería (FIL-IDF 59C:1995), para su posterior extracción de grasa, utilizando la metodología recomendada por FRANK *et al.*, (1975). Almacenándolas a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Se ha supuesto que la composición de las muestras de leche presentan dos fuentes de variación: región o distribución geográfica y estacionalidad.

## 3.2 Tratamiento de las muestras

Las muestras de leche cruda, ya extraída la materia grasa, fueron sometidas a un proceso de extracción y purificación de pesticidas de acuerdo a la técnica descrita por INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1991), FIL-IDF; 75C, Método de Steinwandter.

A continuación, la muestra obtenida fue almacenada en un frasco de vidrio provisto de tapa con cierre hermético de 5 mL a temperatura de refrigeración, para su posterior análisis en forma directa por cromatografía gas-líquido (GLC).

**3.2.1 Análisis.** Se utilizó el método analítico recomendado por FIL-IDF 75C., (1991) Método G, para la extracción y purificación de residuos de pesticidas organoclorados en grasa láctea.

Principio: extracción de compuestos organoclorados a partir de grasa láctea. Purificación del extracto por cromatografía en columna de sílica gel, eluyendo con éter de petróleo/diclorometano 80+20 (v+v) concentración del eluato para análisis por GLC.

**3.2.2 Materiales.** Se utilizaron los siguientes materiales:

- ❖ Columnas cromatográficas (8x250mm) provista de un reservorio en su parte superior (50 mL) y llave de teflón.
- ❖ Lana de vidrio
- ❖ Vasos precipitados.
- ❖ Pipetas (totales y parciales) y, micropipetas.
- ❖ Probeta.
- ❖ Frascos de vidrio con tapa hermética.
- ❖ Crisoles

**3.2.3 Equipos.** Los equipos utilizados se describen a continuación:

- ❖ Balanza Analítica Sartorius A 200 SB 8010021
- ❖ Rotavapor Laborota 4002-digital, Heidolph.
- ❖ Bomba de vacío VACUBRAND: tipo ME 2C. Rango: 50-60 hz.
- ❖ Mufla Termolyne 48000, modelo F 78020-2b

**3.2.4 Solución estándar.** Como estándar se utilizó una mezcla de pesticidas organoclorados: Supelco 46845-U. La concentración de cada uno de los siguientes pesticidas es de 200 µg/ mL: α-HCH, Lindano, Heptacloro, γ-HCH, Aldrín, Heptacloro epóxido, Endosulfan, 4.4'-DDE, Dieldrín, Endrín, Endosulfan I, 4.4'- DDT, Endrín aldehído, Endosulfan sulfato.

**3.2.5 Reactivos.** Para los análisis mencionados se utilizaron los siguientes reactivos:

- A. Sílica gel (70-230 mesh.) Merck N° 1.07734. Activado por calentamiento a 450°C por 3 horas, se enfrió y almacenó en un envase hermético. Para su posterior desactivación se mezcló con 10% (m/m) de agua destilada. Se agitó la mezcla por 20 minutos y se almacenó en un envase hermético por 10-12 horas aproximadamente para que se alcance a una distribución homogénea del agua. Se usó en un plazo no mayor a 3 días.
- B. Éter de petróleo Merck N° 1.01775, rango de ebullición 40-60°C, apropiado para análisis de residuos.
- C. Diclorometano (Cloruro de Metileno) Merck N° 1.06050, apropiado para análisis de residuos.
- D. Solvente de elución, mezcla de éter de petróleo + diclorometano 80+20 (v+v) respectivamente.
- E. Agua destilada, conveniente para análisis de residuos.
- F. n-Hexano (n-heptano o iso-octano), Merck N° 1.04371, adecuado para análisis de residuos.

G. Acetona, Equilab UN.1090, destinado para uso posterior al lavado de material.

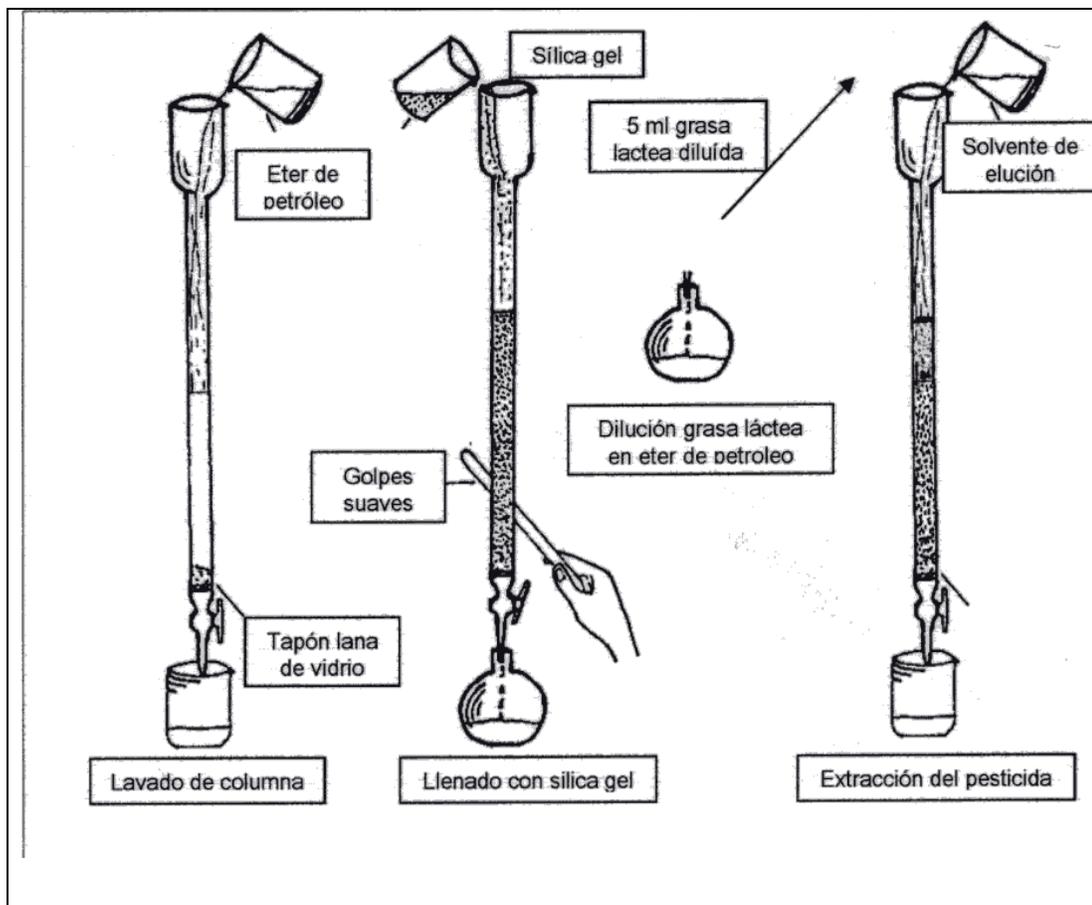
### **3.3 Procedimientos de limpieza de material**

El lavado del material de vidrio fue realizado con detergente Extran, posteriormente se enjuagó con abundante agua destilada para después de seco el material se trató con una solución de mezcla sulfocrómica por un período de a lo menos 24 horas, luego se lavó nuevamente con agua destilada y se secó en horno a 60°C. Finalmente se trata el material con acetona, siguiendo la norma FIL-IDF 75C (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1991)

**3.3.1 Procedimiento para la purificación de residuos.** A continuación se describe este procedimiento:

- ❖ Se preparó la muestra de grasa láctea disolviendo 0,25 g en 5,0 mL de éter de petróleo (B), bajo agitación, la que se traspasó a un matraz aforado de 10 mL. Se completó el volumen de aforo con el mismo solvente.
- ❖ Se preparó la columna cromatográfica colocándole en su base un tapón de lana de vidrio, previamente lavada con éter de petróleo (B).
- ❖ Posterior al lavado con éter de petróleo (B), se agregó 4,5 g. de sílica gel (A) desactivada, con vibración, para mejorar la compactación.
- ❖ Se transfirió a la columna 5,0 mL de la muestra diluida en forma cuantitativa.
- ❖ Se eluyó a continuación con 40 mL del solvente de elusión (D), recibiendo el eluato en un balón de 100 mL.
- ❖ El eluato se concentró bajo presión reducida en el rotavapor, en baño de agua a 40 °C, casi hasta sequedad.
- ❖ Se agregó 1 mL de n- Hexano (F) al matríz del rotavapor, para diluir los plaguicidas en el nuevo solvente, y posteriormente transferirlos a un tubo

de vidrio, guardándolos bajo refrigeración para su posterior análisis por inyección directa al cromatógrafo (GLC).



**FIGURA 4. Preparación y llenado de columna cromatográfica.**

FUENTE: URIBE (1999) (modificado).

### 3.4 Análisis cromatográfico

**3.4.1 Equipo cromatográfico y condiciones operacionales.** Se utilizó un equipo cromatógrafo de gases PERKIN ELMER, autosystem 9000 y columna y capilar Spb - 5, de 30 metros de largo, diámetro interno 0,25 mm y de 0,83  $\mu\text{m}$  de espesor del film, con límites de temperaturas de 40 °C a 260 °C y una estación de trabajo PE NELSON modelo 1022.

Utilizando durante la corrida como gas de arrastre: Argón-Metano 5%, alcanzado las temperaturas del inyector de 220 °C, del detector, 350 °C y con un sistema isotérmico de 150 °C, tomando como tiempo total de la corrida 27,25 min. La Figura 5 muestra un cromatograma obtenido con el estándar utilizado.

**3.4.2 Detector de captura de electrones (ECD).** Es también un detector de ionización en el cual mediante el empleo de una pequeña lámina de material radioactivo  $^{63}\text{Ni}$  se ioniza el gas de arrastre (He,  $\text{N}_2$ ); al pasar muestras, y que tengan afinidad por electrones estas capturarán algunos, produciéndose una disminución en la corriente que se produce por ionización del gas de arrastre. Presenta una gran sensibilidad para determinados compuestos tales como los halogenados. Muy importante en este ECD es el empleo de gas de arrastre de alta pureza, como también el uso de filtro en la línea del gas, debido a su alta sensibilidad se contamina con facilidad (STAMBUK, 1970).

**3.4.3 Condiciones de inyección.** El estándar externo (Supelco 46845-U) fue diluido en una razón 1/1000 para optimizar la sensibilidad del instrumento, utilizando un volumen de inyección de 2,0  $\mu\text{l}$ , condiciones a las cuales las muestras en estudio fueron analizadas cromatográficamente.

El estándar externo se inyectó a intervalos de 2 inyecciones de muestras, con el fin de tener un claro control de los tiempos de retención y la respuesta del detector.

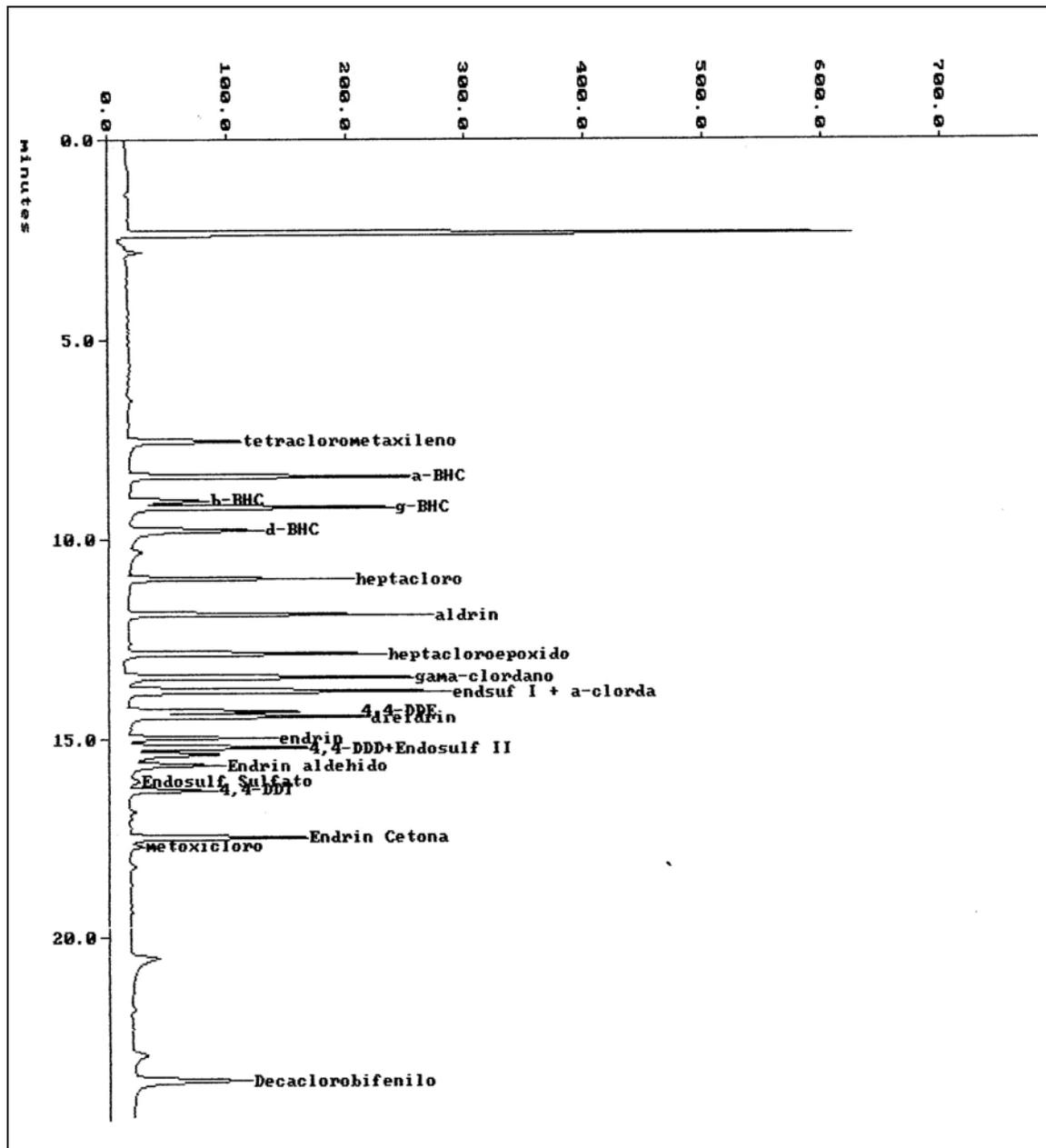


FIGURA 5. Cromatograma obtenido con el estándar utilizado.

**3.4.4 Recuperación del analito.** Se mide como porcentaje de recuperación del analito, añadido a una muestra ensayo en blanco, es una medición que sirve para comparar la cantidad revelada por el análisis con la cantidad añadida a la muestra. La recuperación puede ser menor al 100% (FIL-IDF, 1991). Siendo aceptable una recuperación de 80 % como mínimo.

**3.4.5 Expresión de resultados** El contenido de residuos de pesticidas para las muestras de leche cruda (grasa láctea anhidra) se expresaron en mg/Kg de alimentos, en este caso 1 Kg de alimento es igual a 1Kg de leche.

Un ejemplo del proceso de cálculo se registra en el ANEXO 1.

$$C_i \text{ (ppm base leche)} = (1/p) \times (A_m/A_s) \times C_s \times V_e \times (V_s/V_m) \quad (3.1)$$

Donde:

**p** = peso en gramos de la muestra grasa láctea anhidra.

**A<sub>m</sub>** = Área del pesticida "i" en estudio en el eluato concentrado.

**A<sub>s</sub>** = Área del pesticida "i" en el estándar.

**C<sub>s</sub>** = Concentración en ppm del pesticida "i" en el estándar.

**V<sub>e</sub>** = Volumen en ml del extracto final.

**V<sub>s</sub>** = Volumen en µl de la solución estándar del pesticida "i" inyectado.

**V<sub>m</sub>** = Volumen en µl de la muestra inyectada.

### 3.5 Análisis estadísticos

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con arreglo factorial de 2x4 con 6 repeticiones. Como fuente de variación se considerará el efecto región (2 regiones) y efecto estacional (4 estaciones). Se realizó el análisis de varianza de Fisher, con un 5 % de nivel de significancia y prueba de Tukey cuando fuera necesario; se utilizó el programa SPSS 12.0 y Excel 7.0.

## 4 PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 4.1 Pesticidas órganoclorados en leche cruda IX y X regiones

Los Límites Máximos de Residuos (LMR), valor promedio ( $\bar{x}$ ), razón ( $\bar{x}/\text{LMR}$ ) y porcentajes (%) de muestras con niveles superiores al valor LMR, para los pesticidas investigados en la IX región se presentan en el CUADRO 4. Se puede observar que, no obstante existir un cierto porcentaje de muestras con niveles superiores al LMR, según la legislación vigente (CHILE, MINISTERIO SALUD, 1999), la razón  $\bar{x}/\text{LMR}$  es menor que la unidad, lo que significa que a nivel promedio se cumple con las exigencias establecidas. Los isómeros ( $\alpha+\beta$ ) HCH, no están permitidos en la legislación chilena, sin embargo presentó el mayor porcentaje de muestras con niveles superiores al valor LMR (33%). Al parecer estos isómeros aparecen como impurezas del Lindano técnico, el cual fue prohibido definitivamente por CHILE, MINISTERIO DE AGRICULTURA, SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO (SAG) (1998).

**CUADRO 4. Residuos de pesticidas órganoclorados presentes en leche cruda, IX región.**

Pesticidas órganoclorados	LMR*	% Muestras > a LMR	Valor promedio ( $\bar{x}$ )	Razón $\bar{x}/\text{LMR}$
( $\alpha+\beta$ ) HCH	0,003	33	0,0025	0,8
Lindano	0,001	31	0,0009	0,9
Heptacloro	0,006	2	0,0013	0,2
Aldrín + Dieldrín	0,006	0	0,0006	0,1

\*LMR: Límite Máximo de Residuo (mg/Kg de leche), según CHILE, MINISTERIO DE SALUD. (1999).

El pesticida Lindano presenta un porcentaje de muestras sobre el LMR, 31 % del total de muestras (n=48), destacándose que este pesticida esta dentro de norma, según el valor para  $\bar{x}/\text{LMR}$  de 0,9, muy cercano a 1. De acuerdo a lo comentado anteriormente sobre el uso de este pesticida, fue muy utilizado años anteriores a la prohibición (1998), en tratamientos sanitarios, y debido a las características de los compuestos órganoclorados, de gran persistencia, actualmente se encontraron residuos cercanos al LMR, que según el Ministerio de Salud para este compuesto es de 0,001 mg/Kg de leche, registrando un promedio de este pesticida al nivel de la IX región de 0,0009.

Por otra parte el pesticida Heptacloro presentó valores superiores al valor LMR en el 2% de los casos analizados; el valor promedio (0,00013 mg/Kg de leche) encontrado fue aproximadamente 20 veces inferior al LMR para este pesticida, el cual según norma es de 0,006 mg/kg de leche. No cabe duda del efecto que ha producido la legislación vigente con relación a estos pesticidas (CHILE, MINISTERIO DE AGRICULTURA y SAG en la Resol. N° 2142 de 1987)

El valor de la razón  $\bar{x}/\text{LMR}$  encontrados para los pesticidas Aldrín +Dieldrín fue menor a 1, lo que indica niveles de concentración de residuos aceptados para la sumatoria de dichos pesticidas. Presentaron valores inferiores al valor LMR en el 100% de los casos analizados.

Los resultados encontrados para las muestras de leche de la X región, se presentan en el CUADRO 5. Se puede observar niveles de promedios dentro de los límites establecidos para todos los pesticidas analizados en mg/Kg de leche: ( $\alpha+\beta$ ) HCH 0,0021; Lindano 0,0008; Heptacloro 0,0022 y Aldrín + Dieldrín 0,0012. No obstante, destacan por sus bajos niveles los residuos, Heptacloro y Aldrín + Dieldrín con porcentajes de muestras que no sobrepasan el LMR de 2% para ambos, al igual que en la IX región que para

Heptacloro presentó un 2% y 0% para Aldrín + Dieldrín. Sin embargo, se puede observar que al igual que en la IX región se repiten los pesticidas con porcentajes más altos de muestras sobre el LMR, siempre dentro de la normativa (CHILE, MINISTERIO DE SALUD, 1999), para ( $\alpha+\beta$ ) HCH y Lindano con un 25% y 29% respectivamente.

**CUADRO 5. Residuos de pesticidas órganoclorados presentes en leche cruda X región.**

<b>Pesticidas órganoclorados</b>	<b>LMR*</b>	<b>% Muestras &gt; a LMR</b>	<b>Valor promedio (<math>\bar{x}</math>)</b>	<b>Razón <math>\bar{x}/\text{LMR}</math></b>
<b>(<math>\alpha+\beta</math>) HCH</b>	0,003	25	0,0021	0,7
<b>Lindano</b>	0,001	29	0,0008	0,8
<b>Heptacloro</b>	0,006	2	0,0022	0,3
<b>Aldrín + Dieldrín</b>	0,006	2	0,0012	0,2

\*LMR: Límite Máximo de Residuo (mg/Kg de leche), según CHILE, MINISTERIO DE SALUD. (1999).

Esto demuestra que actualmente se han seguido las normas de prohibición impuestas en la Resol. N°2180 de 1998 del Ministerio de Agricultura y Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), la que prohíbe el uso de Lindano en uso agrícola y aplicación en baños del ganado bovino.

La presencia de ( $\alpha+\beta$ ) HCH, se debe a que el Lindano técnico, de uso agrícola contiene isómeros de ( $\alpha+\beta$ ) HCH. El pesticida HCH-técnico, tiene un costo menor con relación al Lindano puro. El compuesto técnico contiene aproximadamente entre 60-70% del isómero  $\alpha$ , 5-12% del isómero  $\beta$ , y 10-15% de Lindano ( $\gamma$ -HCH), usado principalmente en el tratamiento de semillas, control de insectos en el suelo, desinfección de establos, etc. (LUQUET *et al.*, 1974).

Cabe destacar que estos compuestos órganoclorados tienen una elevada persistencia en el ambiente y que se acumulan en los tejidos adiposos de humanos y animales (vacas) que son excretados durante la lactación en la grasa láctea (JENSEN, 1996).

URIBE, (1999), detectó también valores de estos pesticidas bajo LMR, encontrando para Lindano un promedio de 0,041 mg/ kg base grasa (0,0012 mg/Kg de leche) y para ( $\alpha+\beta$ ) HCH un 0,068 mg/Kg base grasa (0,0020 mg/kg de leche).

Si se comparan los valores promedios de pesticidas encontrados en este estudio, con los obtenidos por PINTO *et al.*, (1990b), en la Décima región, queda en evidencia la disminución de estos compuestos, al presentar valores promedios para Lindano de 0,041 mg/Kg base grasa (0,0012 mg/Kg de leche) y 0,726 mg/Kg base grasa (0,022 mg/Kg de leche) para ( $\alpha+\beta$ ) HCH. Se aprecia que ha habido un importante decrecimiento de los niveles de residuos desde la prohibición del Ministerio de Agricultura y SAG (1998). Esto demuestra un cambio en la actitud de los agricultores en respetar las “Buenas Prácticas Agrícolas”.

La razón por la que se encontraron residuos de pesticidas, aun cuando estos son mínimos, se debe a su persistencia y a que, fueron muy utilizados para combatir plagas en el almacenamiento de alimentos y en la higiene animal, por esto se encuentra actualmente como residuo en la leche cruda, pero bajo control. Por razones de costos se asume que algunos agricultores usaron de preferencia, en labores antes mencionadas, el Lindano técnico, en reemplazo del Lindano puro que sólo contiene el isómero  $\gamma$ -HCH.

Actualmente, los resultados obtenidos indican que los plaguicidas estudiados ya no son una preocupación. WOLFF y TONIOLO (1995), mencionan que

concentraciones de pesticidas en el humano afectan la función normal endocrina y reproductiva. Resultando tener efectos carcinogénicos; teratogénicos por que estos residuos pueden transferirse al cordón umbilical y por medio de la alimentación materna al bebe (PANDIT *et al.*, 2002).

PINTO *et al.* (1990b), encontró un valor promedio de 0,15 mg/Kg base grasa (0,0045 mg/Kg de leche) para Aldrín + Dieldrín y Heptacloro en todas las regiones estudiadas lo cual superaba el Límite Máximo de Residuos, valores tan altos encontrados podrían estar relacionados con el uso de estos pesticidas en siembras de praderas, para la alimentación de ganado lechero, o en la elaboración de ensilajes, heno o concentrados alimenticios (MITCHEL *et al.*, 1986; DE LA BARRA, 1987) en campos anteriormente tratados con estos compuestos.

El estudio realizado por URIBE (1999), indica la disminución de estos pesticidas de manera considerable, encontrando valores de 0,020 mg/Kg base grasa (0,006 mg/Kg de leche) para Aldrín + Dieldrín y 0,004 mg/Kg base grasa (0,0012 mg/Kg de leche) para Heptacloro cuyas razones son menores a 1, comparados con esta investigación se sigue con el decrecimiento de dichos pesticidas en forma radical.

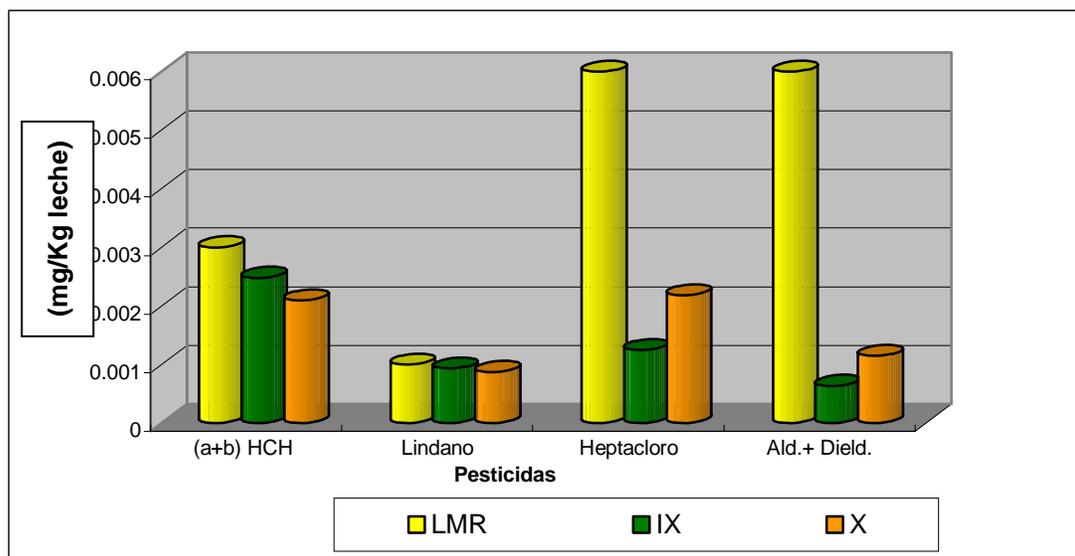
No cabe duda del efecto que ha producido la legislación vigente con relación a estos pesticidas (Ministerio de Agricultura y SAG en la Resol. N° 2142 de 1987( Heptacloro), Resol. N° 2003 de 1988 (Aldrín) y Resol N° 2142 de 1987(Dieldrín)) en el sentido de prohibir la importación, fabricación, venta, distribución y uso de estos plaguicidas.

Al observar la biomagnificación que estas sustancias manifiestan, se considera altamente recomendable observar los niveles de estos pesticidas al comienzo de la cadena trófica para evitar riesgos en salud humana. Es igualmente aconsejable realizar controles rutinarios y de seguimiento de

estos residuos en los alimentos (leche, carne, derivados y otros) para asegurar que el descenso siga en sus niveles de concentración.

Las Resoluciones de los Organismos de Gobierno mencionados anteriormente, han tenido un efecto positivo en el control de estos agroquímicos, junto con el cambio de actitud de agricultores, es un hecho que debe destacarse. Estas disposiciones, sumadas a programas que incentiven las "buenas prácticas agrícolas", programas de instrucción para los productores, seguirán alcanzado en el corto plazo niveles sin riesgos en salud pública, hasta su discontinuación de trazas en el ambiente.

La FIGURA 6, representa la comparación entre regiones de los pesticidas en estudio. No se encontró diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre las regiones estudiadas para cada uno de los pesticidas investigados (ANEXO 1)



**FIGURA 6. Representación de la comparación entre las regiones (IX- X) de residuos órganoclorados en estudio.**

Esta diferencia queda demostrada al analizar estadísticamente, los pesticidas en cada una de las regiones, mostrando los resultados en el ANEXO 1.

Se puede observar en la FIGURA 6 que el pesticida ( $\alpha+\beta$ ) HCH presenta promedios de concentración de 0,0025 en la IX y 0,0021 en la X. Para este pesticida se puede asumir que, su presencia en el ambiente proviene de años anteriores, cuando el uso de Lindano técnico compuesto que contiene mayor porcentaje de estos isómeros, era aplicado, al parecer, principalmente en el tratamiento de semillas, control de insectos en suelo, desinfección de establos.

PINTO *et al.* (1990b), en un estudio realizado a 12 plantas lecheras de Chile, en leche pasteurizada, encontraban en la IX región un 54,2% y en la X un 75% de muestras que sobrepasan el LMR para la mezcla de isómeros ( $\alpha+\beta$ ) HCH. Según estos autores, la contaminación de leche, con éstos residuos, se debió al uso del HCH técnico como protector de granos y en el control de plagas en siembras.

Siguiendo la representación gráfica (FIGURA 6), el pesticida que lo sigue en su concentración es el Heptacloro con un promedio para la IX región de 0,0013 mg / Kg de leche y para la X región de 0,0022 mg / Kg de leche.

El Heptacloro se aplica a tratamientos de suelos y semillas, por ende la presencia de este pesticida en la leche estuvo relacionada al uso en insumos de maíz, granos, sorgo, cultivos que luego son empleados en la alimentación animal o en la elaboración de ensilajes, heno o concentrados alimenticios (MITCHELL *et al.*, 1996), durante los años en que este pesticida no estaba prohibido, ya que aún no se conocían los efectos como promotor en los procesos neoplásicos y efectos mutagénicos (HODGSON y LEVI 1996)

La prohibición data de 1987, por el Ministerio de Agricultura y SAG en la Resol N° 2142. Sin embargo, estos compuestos tienen diferencias en la persistencia en el ambiente, pero esa persistencia es aproximada dado que depende de varios factores ambientales como la temperatura, el pH, la aireación y el contenido de sustancias orgánicas del suelo, el lavado de los

suelos, la degradación biológica y química, la volatilización y la absorción por los cultivos son algunos de éstos factores. GREENHALG (1978), estimó el 95% de la degradación de este compuesto en 3,9 años.

Comparando el Lindano entre regiones es el pesticida que sigue el estudio, ya que sus valores promedios para IX y X regiones son de 0,0009 y 0,00087 respectivamente, lo que indica que la concentración de este pesticida es la más cercana al LMR, el cual según legislación vigente es de 0,001mg/Kg de leche. Esta alta concentración, pero bajo el LMR, se debe a que sólo recientemente a partir del año 1998 se prohibió su uso, en animales, con fines sanitarios, para combatir ectoparásitos; en la agricultura se usó en semillas, entre otros cultivos. Dado que su metabolismo es muy lento en plantas, resultando ser un pesticida de 3 años y más de permanencia en el ambiente.

El último pesticida evaluado entre regiones fue Aldrín + Dieldrín, encontrando para la IX y X regiones valores promedios de 0,0006 y 0,0012 respectivamente. La restricción oficial para el uso de estos compuestos data de 1987 para Dieldrín Resol. N° 2142 y 1988 para Aldrín, Resol. N° 2003. Al parecer, los altos niveles estarían relacionados con el uso en cultivos, que luego fueron empleados en la alimentación de animales o en la elaboración de ensilajes, heno o concentrados alimenticios.

Comparado con los niveles encontrados por PINTO *et al.* (1990b) de 0,386 y 0,587 mg/Kg base grasa (0,012; 0,018 mg/Kg de leche) para las IX y X regiones respectivamente; la disminución de este pesticida es considerable.

Cabe destacar que todos los pesticidas investigados comparados con estudios anteriores cumplen con la legislación vigente, y su decrecimiento es relevante. Es indudable que las distintas prohibiciones impuestas por el Ministerio de Agricultura y Salud, a través de las distintas resoluciones desde 1987 han tenido un efecto sobre los niveles de residuos de p.o.

## 4.2 Efecto estacionalidad de pesticidas órganoclorados

El CUADRO 6 muestra los promedios según las estaciones, además de la razón ( $\bar{x}$  /LMR) para los pesticidas investigados, lo que indica a modo general que la mayoría de los pesticidas para estas dos estaciones cumplen con la legislación vigente de 1999, estipulada por el Ministerio de Salud.

Durante la estación de verano el Lindano presenta una razón igual a 1, lo que indica que este pesticida está en el límite según legislación nacional vigente, ya que su promedio es igual al LMR establecido, 0,001 mg/Kg de leche. En primavera este pesticida desciende a 0,8 cumpliendo en este caso la reglamentación sobre los LMR ( $< \text{LMR}$ ), lo que también ocurre en otoño con un  $\bar{x}$  /LMR de 0,9 y en invierno de 0,8. Sin embargo, estos valores son altos, esto se puede deber a que es destacable la tendencia que siguen estos pesticidas órganoclorados durante el año, observándose una tendencia creciente en el período primavera-verano. Tendencias similares fueron encontradas por PRADO *et al.* (1998), quienes estudiaron estos residuos de plaguicidas órganoclorados en leche pasteurizada comercializada en Ciudad de México.

El ( $\alpha+\beta$ ) HCH presentó valores para la relación  $\bar{x}$  /LMR, en las estaciones, inferiores a los LMR estipulados en legislación nacional, lo que concuerda con la tendencia encontrada por PRADO *et al.* (1998), una tendencia creciente en la estación primavera-verano.

Los pesticidas Aldrín + Dieldrín muestran para la misma razón los valores más inferiores en las cuatro estaciones estudiadas; valor incluso inferior (0,08) en el otoño, 0,1 en la estación de verano, invierno y primavera. Los valores encontrados para Heptacloro son igualmente bajos, 0,2 en invierno y primavera y 0,1 y 0,3 para las estaciones de verano y otoño respectivamente.

Esto indica que las concentraciones de estos pesticidas son muy bajas, lo que cabe destacar en la actualidad, con valores sin riesgos para la Salud Pública.

**CUADRO 6. Valores promedio según estaciones y razón  $\bar{x}$  /LMR en la IX región.**

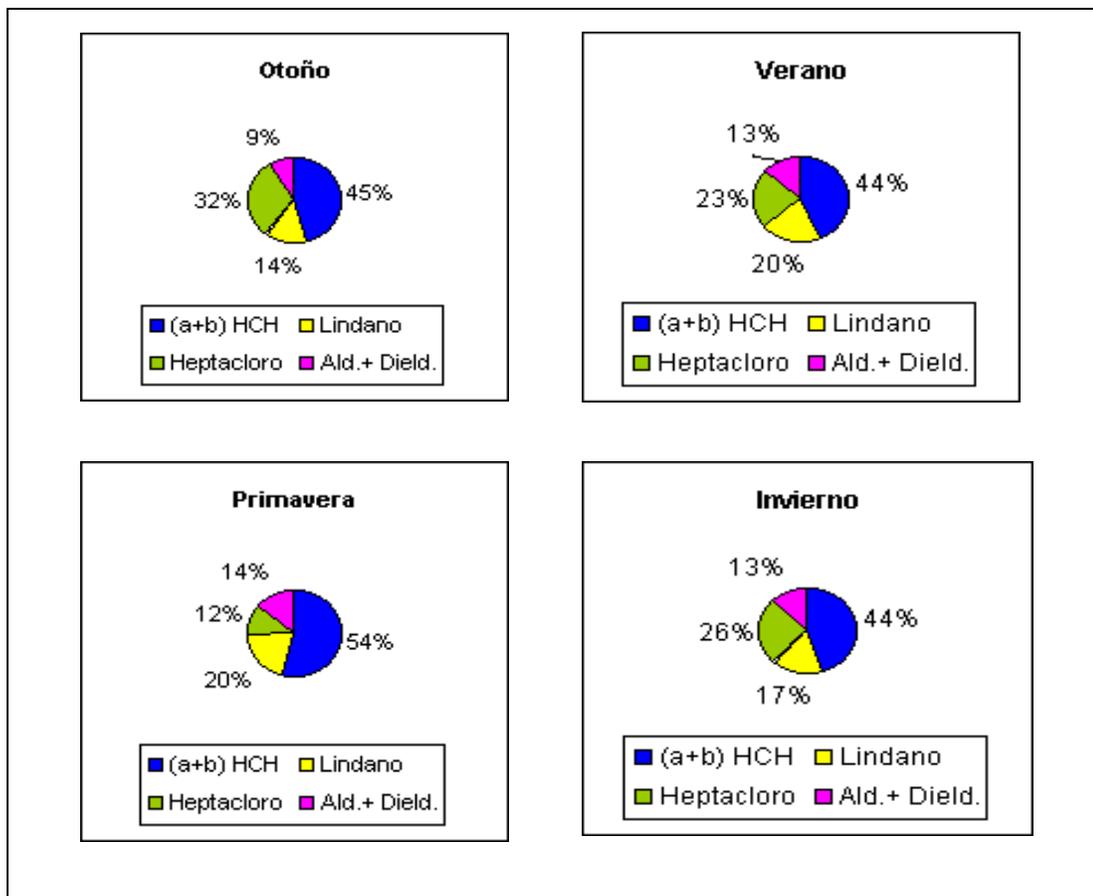
Promedio Estacional IX Región ( $\bar{x}$ )								
Pesticidas organoclorados	Verano	$\bar{x}$ / LMR	Otoño	$\bar{x}$ / LMR	Invierno	$\bar{x}$ / LMR	Primavera	$\bar{x}$ / LMR
( $\alpha+\beta$ ) HCH	0,0021	0,7	0,0028	0,9	0,0022	0,7	0,0028	0,9
Lindano	0,0010	1	0,0009	0,9	0,0008	0,8	0,0008	0,8
Heptacloro	0,0011	0,1	0,0020	0,3	0,0014	0,2	0,0014	0,2
Aldrín +Dieldrín	0,0007	0,1	0,0005	0,08	0,0006	0,1	0,0006	0,1

Los pesticidas estudiados no presentan diferencias significativas ( $P>0,05$ ) entre estaciones, lo que implica que las concentraciones encontradas como residuos en la leche cruda son semejantes a lo largo del año y dentro de las normas establecidas.

La FIGURA 7 muestra los porcentajes frecuencias de cada pesticida en las muestras analizadas ( $n=48$ ) de la IX región de Chile.

El pesticida ( $\alpha+\beta$ ) HCH es el mayormente encontrado, es decir, presenta mayor porcentaje de muestras con este pesticida en las diferentes estaciones, primavera 54%; verano 44%; otoño 45% e invierno 44%. Este pesticida aún se encuentra en casi la mitad de las muestras analizadas ( $n=48$ ), presentando porcentajes semejantes entre las estaciones. Esto indica su persistencia en el ambiente, la que proviene del uso del Lindano técnico, producto comercializado con grandes cantidades de estos isómeros

en su composición, y que su prohibición esta descrita en la Resol. N° 2179 de CHILE, MINISTERIO DE AGRICULTURA, (1998).



**FIGURA 7. Representación gráfica de los pesticidas en cada estación, para la IX región.**

El pesticida que le sigue, encontrándose en más muestras, es el Heptacloro con un porcentaje en primavera de 12%; verano 23%; otoño 32% e invierno 26%. Pesticida con un tiempo de permanencia en el ambiente muy largo (6 a 14 años), lo que indica que a pesar de su prohibición del año 1987, por sus características de ser un compuesto órganopersistente, tóxico en animales y carcinógeno en humanos. Cabe destacar su comportamiento a través del

tiempo, el cuál presenta porcentajes más altos en temporada otoño-invierno de muestras con este pesticida en la leche cruda (n=48) de la IX región.

El Lindano es el compuesto a continuación en la evaluación de porcentajes de frecuencia en las muestras de los pesticidas en estudio, que en primavera obtiene un 20%; verano 20%; otoño 14% e invierno 17%. Esto indica que en temporada de primavera-verano hay mayores muestras contaminadas con este residuo, comparada con la temporada otoño-invierno, que presenta menos muestras que contenga este pesticida.

Finalmente, se encuentra el Aldrín + Dieldrín con menos muestras que presentan este residuo con porcentajes de 13%, 14%, 9% y 13% para las estaciones de primavera, verano, otoño e invierno respectivamente. Estos porcentajes son muy similares entre las estaciones, presentando en otoño el porcentaje mas bajo. Estos bajos porcentajes es a causa de su prohibición desde el año 1987 – 1988, lo que indica que en el ambiente quedan trazas de estos pesticidas en mínimas cantidades, pudiendo en un futuro cercano encontrar el 100% de las muestras sin este residuo.

En la X región, los valores promedios según estación, se presentan en el CUADRO 7. Se observa que el contenido de  $(\alpha+\beta)$  HCH en la estación de primavera presenta una razón de 0,6; verano de 0,7; otoño 0,8 e invierno 0,6 valores que están dentro de norma en cada estación, por ser inferiores a 1. Cabe destacar que otoño presenta un promedio superior a las otras estaciones, pero en general no hay diferencias entre las estaciones ( $P>0,05$ ). (ANEXO 1)

Observando los niveles del Lindano, este muestra en primavera una razón  $\bar{x}/LMR$  igual a 1, lo que indica que este pesticida contiene una concentración promedio (0,001) igual al Límite impuesto por legislación, el cual es de

0,001mg/Kg de leche. No así en la estación de verano, que aún cuando el valor de la razón es cercano a 1, este no es igual, sino que, inferior, cumpliendo así con la legislación en esta época del año. En otoño e invierno la razón  $\bar{x}/\text{LMR}$  presentó valores de 0,8 y 0,7 respectivamente valores que también caen dentro de la normativa actual. Para este pesticida nuevamente no existen diferencias significativas ( $P>0,05$ ) (ANEXO 1)

Según PRADO *et al.* (1998), en el estudio realizado, los valores de la temporada primavera-verano concuerda el crecimiento para Lindano en temporada, indicando un decaimiento en las otra temporada de otoño-invierno.

**CUADRO 7. Valores promedio según estaciones y razón  $\bar{x}/\text{LMR}$  en la X región.**

Promedio Estacional X Región ( $\bar{x}$ )								
Pesticidas órganoclorados	Verano	$\bar{x}/$ LMR	Otoño	$\bar{x}/$ LMR	Invierno	$\bar{x}/$ LMR	Primavera	$\bar{x}/$ LMR
( $\alpha+\beta$ ) HCH	0,0022	0,7	0,0025	0,8	0,0018	0,6	0,0019	0,6
Lindano	0,0009	0,9	0,0008	0,8	0,0007	0,7	0,0010	1
Heptacloro	0,0018	0,3	0,0020	0,3	0,0025	0,4	0,002	0,3
Aldrín +Dieldrín	0,0007	0,1	0,0011	0,1	0,0009	0,1	0,0017	0,2

Con relación al pesticida Heptacloro, en verano presenta valores  $\bar{x}/\text{LMR}$  de 0,3, al igual que en primavera y otoño, no así en invierno que aumenta a 0,4, valores todos inferiores a los LMR, destacando su cumplimiento con la legislación.

La situación sobre el Aldrín + Dieldrín es similar al Heptacloro, pero el valor  $\bar{x}/\text{LMR}$  es inferior, ya que en primavera presenta un 0,2, y para las demás estaciones un valor de 0,1, lo que indica su cumplimiento con la normativa.

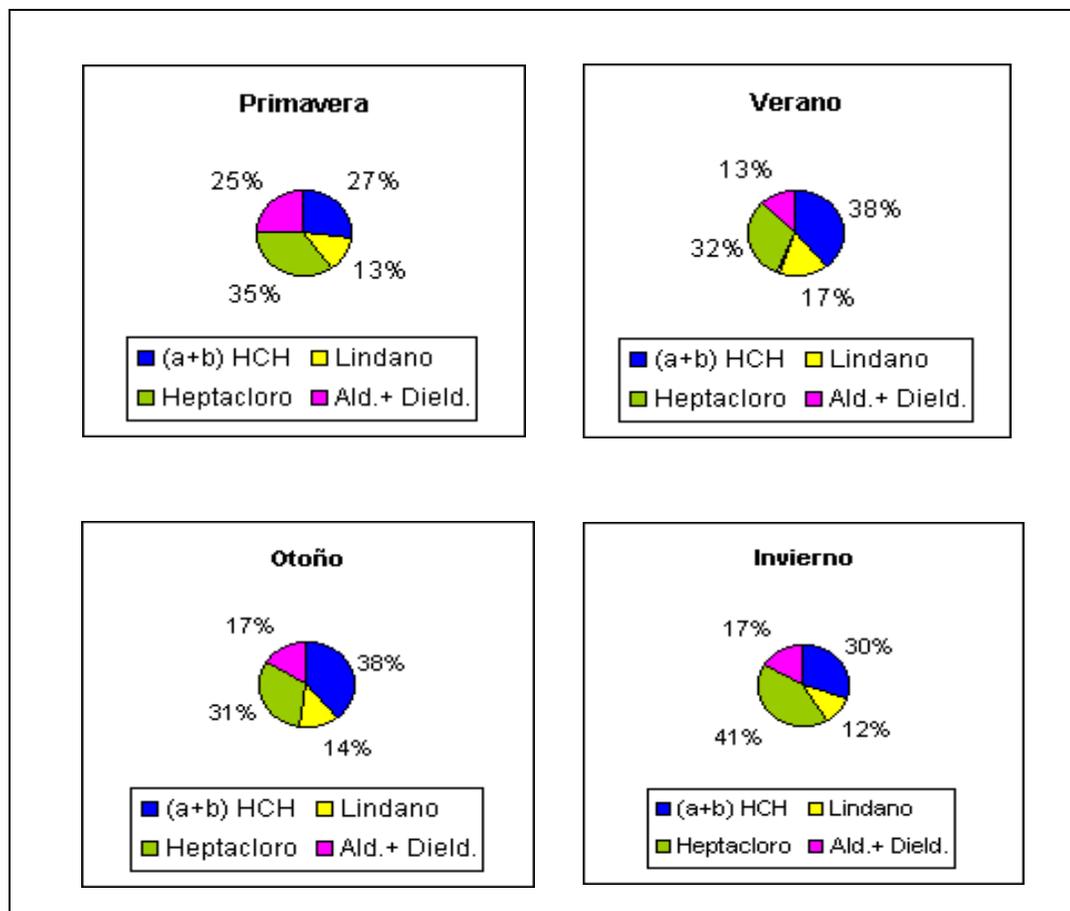
Estos últimos pesticidas analizados del CUADRO 7, no presentan diferencias significativas en cada una de las estaciones estudiadas ( $P > 0,05$ ), es decir, los valores de sus concentraciones son muy similares entre ellas y su estacionalidad. (ANEXO 1)

Es importante destacar las bajas concentraciones encontradas, debido a la prohibición en la importación, fabricación, venta y uso de estos plaguicidas, desde los años 1987 para Heptacloro y Dieldrín, y 1988 para Aldrín, del Ministerio de Agricultura y SAG (CHILE, MINISTERIO DE AGRICULTURA 1987 y 1988). Lo que demuestra que actualmente son pesticidas completamente controlados, destacando las “Buenas Prácticas Agrícolas” de los agricultores, señalando que en un futuro cercano no habrá trazas de estos como residuo en leche cruda.

La representación gráfica de los porcentajes de muestras encontradas durante las distintas estaciones durante 1 año en la X región, son mostradas en la FIGURA 8. Indicando que el pesticida que tiene mayor incidencia en las muestras es el Heptacloro para las estaciones de primavera, verano, otoño e invierno, cuyos porcentajes son: 35%, 32%, 31% y 41% respectivamente. Los promedios de este pesticida en cada región cumplen con los LMR (CHILE, MINISTERIO DE SALUD, 1999)

El ( $\alpha + \beta$ ) HCH es el pesticida que sigue al Heptacloro, mostrando valores para primavera, verano, otoño e invierno de 27%, 38%, 38% y 30% respectivamente. Pesticida que también está dentro de la normativa vigente.

Los porcentajes para el pesticida Aldrín + Dieldrín en primavera es de 25%, verano 13%, otoño 17% al igual que invierno, igualmente sus niveles cumplen con la legislación vigente.



**FIGURA 8.** Representación gráfica de los pesticidas en cada estación, para la X región.

## 5 CONCLUSIONES

Los resultados de los residuos de pesticidas órganoclorados encontrados en las muestras analizadas de leche cruda de plantas lecheras de la IX y X regiones presentan valores inferiores a los Límites Máximos de Residuos, estipulados por el organismo nacional, Ministerio de Salud, 1999. (CHILE, MINISTERIO DE SALUD 1999)

A nivel regional, no existe diferencia significativa ( $P > 0,05$ ). En las regiones de mayor productividad lechera nacional (84%), no presentan niveles promedio objetables, desde el punto de vista de Salud Pública para los pesticidas órganoclorados investigados en el presente estudio.

Al nivel de muestras individuales se concluye que aún existe un porcentaje de muestras por sobre los LMR, para los casos de Lindano y  $(\alpha + \beta)$  HCH, lo que amerita la continuidad de la presente línea de investigación para controlar la disminución de los pesticidas objetables.

Los niveles de pesticidas analizados durante un año, evaluados por estacionalidad no presentan diferencias entre estas, indicando que no existe variación en las concentraciones de los pesticidas por efecto estación.

## 6 RESUMEN

El objetivo general del presente trabajo fue, evaluar el contenido de los pesticidas órganoclorados que se encuentran presentes en la leche cruda de las regiones IX y X. Para ello se empleó grasa láctea proveniente de un muestreo mensual durante un año de la leche cruda de industrias lecheras de las regiones antes mencionadas. La purificación y concentración de los residuos se realizó según la metodología recomendado por la Federación Internacional de Lechería (FIL-IDF 75C:1991, por Stainwandter, método G), evaluando los siguientes pesticidas: ( $\alpha+\beta$ ) HCH, Lindano; Heptacloro y Aldrín + Dieldrín, para su posterior análisis por cromatografía G-L.

El valor promedio ( $\bar{x}$ ), la razón ( $\bar{x}/\text{LMR}$ ) y el porcentaje de muestras con niveles superiores al LMR ( $>\text{LMR}$ ), encontrados en la IX región fueron respectivamente los siguientes en mg/Kg de leche: ( $\alpha+\beta$ ) HCH 0,0025; 0,8 y 33%. Lindano 0,0009; 0,9 y 31%. Heptacloro 0,0013; 0,2 y 2% y Aldrín + Dieldrín 0,0006; 0,1 no hay porcentaje de muestra positivas. En la X región estos valores fueron los siguientes: ( $\alpha+\beta$ ) HCH 0,0021; 0,7 y 25%. Lindano 0,0008, 0,8 y 29%. Heptacloro 0,0022, 0,3 y 2% y Aldrín + Dieldrín 0,0012, 0,2 y 2%, respectivamente.

En general, todos los pesticidas encontrados en las muestras de leche, presentaron niveles de concentración inferiores a los Límites Máximos de Residuos, fijados por CHILE, MINISTERIO DE SALUD (1999).

Las regiones estudiadas, así como la estacionalidad no presentaron diferencias significativas en los valores promedios de pesticidas estudiados ( $P>0,05$ ).

De esta manera, actualmente, la leche cruda no presenta riesgos causados por la presencia de pesticidas órganoclorados en la salud humana.

## SUMMARY

The main objective of the present research was to evaluate the contents of the organochloride pesticides found in raw milk of IX and X Region. So, milk fat of raw milk from dairy industries of the mentioned regions and throughout a year was used. The clean up procedure and concentration of the residues were done according to the IDF (FIL-IDF 75C:1991, Stainwandter, Method G), evaluating the following pesticides: ( $\alpha+\beta$ ) HCH. Lindane; Heptachlor and Aldrin + Dieldrin, for its later Chromatographic G-L analysis.

The average value ( $\bar{x}$ ), the standard ( $\bar{x}/\text{LMR}$ ) and the % de samples with highest levels LMR ( $>\text{LMR}$ ), found in IX Region were the following in mg/kg of milk respectively: ( $\alpha+\beta$ ) HCH 0,0025; 0,8 and 33%. Lindane 0,0009; 0,9 and 31%. Heptachlor 0,0013; 0,2 and 2% and Aldrin + Dieldrin 0,0006; 0,1 no percentage of positive sample was found. In X Region the values were: ( $\alpha+\beta$ ) HCH 0,0021; 0,7 and 25%. Lindane 0,0008, 0,8 and 29%. Heptachlor 0,0022, 0,3 and 2% and Aldrin + Dieldrin 0,0012, 0,2 and 2 % respectively.

Generally, all the pesticides found in milk samples had lower concentration average levels than the Maximum limits residues established by the Chile Public Health Ministry in 1999.

There were no significant differences in the pesticides average values studied ( $P>0,05$ ) in the regions studied as well as seasonality.

Therefore, at present raw milk presents organochloride pesticides average values which are not dangerous to human health.

## 7 BIBLIOGRAFÍA

ANG, C. y DUGAN, C. 1973. Distribution of Dieldrín in milk fractions. *J. Food Sci.*, 38: 791-796

BLÜTHGEN, A., HEESCHEN, W. y NIJHUIS, H. 1984. Residues and contaminants in milk and milk products. In *Challenges to Contemporary Dairy Analytical Techniques*. University of Reading. England, Special Publication N°2 pp. 206- 235.

BRAVO, S. 1987. Residuos de pesticidas en leches de rebaños de la provincia de Valdivia. Tesis Mag. Ciencias y Tecn. De la leche. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Escuela de Postgrado, Facultad de Ciencias Agrarias, 120 p

CARRASCO, J. y PRIMO, H. 1980. *Química Agrícola II. Plaguicidas y fitorreguladores*. 2ª Ed. Alambra, Madrid. 639 p.

CERKVENIK, V., ZDENKA, D. y JAN, J. 2000. Evidence of some trace elements, organochlorine pesticides and PCBs in Slovenian Cow's milk. *Food Technol. Biotechnol.* 38 (2) 155-160.

CHILE, MINISTERIO DE AGRICULTURA. SERVICIO AGRÍCOLA GANADERO. 1998. Prohíbe la importación, fabricación, venta, distribución y uso de los plaguicidas Lindano. Resolución N° 2179. 47 p.

\_\_\_\_\_ 1988. Prohíbe la importación, fabricación, venta, distribución y uso de los plaguicidas Aldrín. Resolución N° 2003. 47 p.

- \_\_\_\_\_ 1987. Prohíbe la importación, fabricación, venta, distribución y uso de los plaguicidas Dieldrín, Endrín, Heptacloro y clordán. Resolución N° 2142. 47 p.
- CHILE, MINISTERIO DE SALUD. 1999. Fija tolerancias máximas de residuos de plaguicidas en alimentos de consumo interno. Resol. Exenta N° 581. Publicada en Diario Oficial de 6 de marzo de 1999. 54 p.
- CODEX ALIMENTARIUS. 1992. Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Comisión del CodeX Alimentarius. Volumen 1. Segunda edición, FAO, Roma. 331 p
- DE LA BARRA, M. 1987. Determinación de contenidos de pesticidas órganoclorados en alimentos para ganado bovino por cromatografía gas-liquido. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 75 pp.
- DHALIWAL, S. 1990. Pesticide contamination of milk and mil products. Offprints from food contamination from environmental products. John Willey and Sons, Inc., New York. pp.223-270.
- DOWNEY, W. 1972. Pesticide residue in milk and milk products. International Dairy Federation. Ann. Bull. Part LL. 71 p.
- FAO. 2002. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (Versión Revisada). Código Internacional de conducta para la Utilización de Plaguicidas. Adoptado por el 123º período de sesiones del Cosejo de la FAO. Roma. pp.2-31.
- FAO/OMS. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS / ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 1991.

(Informe Conjunto). Residuos de plaguicidas en los alimentos. Ginebra, 122 p.

FERNICOLA, N. 1985. Toxicología de los insecticidas organoclorados. Bol. Of. Saint. Panam. 98(1): 10-19 p.

FRANK, R., SMITH, E. H., BRAUN, H.E., HOLDRINET, M. y MC WADE, J.W. 1975. Organochlorine Insecticides and Industrial Pollutants in the milk Supply of the Southern Region of Ontario, Canada. Journal Milk Food Technology. 38 (2): 65.

GARCÍA, A., RAMÍREZ, A y LACABANA, M. 2002. Prácticas de utilización de plaguicidas en agricultura. GAC. SAINT. Vol. 16, N°3: pp 236-240.

GOLDEN, R., NOLLER, K., TITUS-ERNSTOFF, L., KAUFMAN, R., MITTENDORF, R., STILLMAN, R. y REESE, E. 1998. Environmental endocrine modulators and human health: an assessment of biological evidence. Critical Reviews in Toxicology. 28, 109-127

GOURSAUD, J. LUQUET, F., y CASALIS, J. 1971. Sur la pollution du lait de femme par les résidues de pesticides dans les départements du Nord et du Pas-de-Calais. Lait 45: 412-414

GREENHALGH, R. 1978. Commission on terminal pesticides residues, J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 61: 841-865

HEESCHEN, W. y BLÜTHGEN, A. 1991. Basic Terms-Definitions. En: Monograph on residues and contaminants in milk and milk products. International Dairy Federation Special Issue 9101. FIL-IDF. Brussels. Belgium: 2-11.

- HEESCHEN, W. y NIJHUIS, H. 1983. Feeds as a source of contamination of milk with HCH and aflotoxin. *Molkereitechnick* 61, 46-54. In *Dairy Sc. Abstracts* 47 (9) N° 5487.
- HEESCHEN, W. y BLÜTHGEN, A. 1979. HCH (Hexachlorocyclohexane residues in milk, *Milchpraxis* 17: 80-81. en *Dairy Science Abstracts*. 1981.
- HERNÁNDEZ, H. y PÉREZ, B. 1995. El vuelo del mosquito: un debate sobre mosquitos. *Avance y Perspectiva*. CINVESTAV. México.14: 5-15.
- HODGSON, E. y LEVI, P. 1996. Pesticides: an important but underused model for the environmental health sciences. *Environmental Health Perspectives Supplements*. Mar96, Vol. 104, Fascicule Suppl. 1
- HOSIE, S., LOFF, S., WITT, K., NIESSEN, K. y WAAG, K. 2000. Is there a correlation between organochlorine compounds and undescended testes?. *European Journal of Pediatric Surgery*. 10, 304-309.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION IDF/FIL. 1991 Milk and milk products, Recommended methods for determination of organochlorine compounds (pesticides). International FIL-IDF Standard 75C:1991. 13 p.
- JENSEN, R. 1996. The lipid in human milk. *Progress in Lipid Research*, 35:53-92
- KALANTZI, O., ALCOCK, R., JOHNSTON, P., SANTILLO, D., STRINGER, R., THOMAS, G. y JONES, K. 2001. The global distribution of PBCs

and organochlorine pesticides in butter. *Environmental Science Technology*. 35, 1013-1018.

KALPANA, B. 1999. Human health risk assessment for exposures to pesticides: a case study of endocrine disrupters. *Proceedings of Eighth National Symposium on Environment*, Kalpakkam. India. pp. 70-72.

LARA, E., HARLOW, S., HERNÁNDEZ, B. y SÁNCHEZ, C. 2000. Organochlorine pesticide exposure in rural and urban areas in Mexico. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*. 10, 394-399.

LARSEN, J. 1988. Toxicological implications of persistent organohalogens in mothers milk as indicated by animal experiments. En: A. A. JENSEN y S. A. SLORACH (Eds.). *Chemical Contaminants Human Milk*. Denmark, CRC Press Inc., pp.223-270

LIENER, I. 2002. Toxins in cow's milk and human milk. *Journal of National and Environmental Medicine*. 12 (3): 175-186.

LOMBERA, M. 1994. Los plaguicidas en México: un problema de Salud Publica. *Boletín de Morbilidad y Mortalidad* 1 (15): 1-6

LUQUET , F. GOURSAUD, J. y CASALIS, J. 1974 .Les residues de pesticides organochlorés dans les lait animaux et humains. *Le Lait* . 54(535-536): pp. 269-301.

MENDEZ, A., MARTINEZ-CASTRO, Y. y JUÁREZ, M. 1979. Posibilidades de eliminación de los residuos de pesticidas órganoclorados de la leche y productos lácteos. *Revista Española de Lechería* N° 114: 213-228

- MITCHELL, G., WOOD, A., ANNAD, C. y SIGLEY, E. 1986. Pesticide residue levels in Queensland pasteurised milks. Aust, J. Dairy Technology, 42: 63-66
- MONTES, L. PINTO, M., TAMAYO, E. y CRISTI, R. 1986. Determinación de residuos de pesticidas órganoclorados en carne bovina, cromatografía de gas-liquido. Agro Sur 14 (1): 30-41
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. OMS. 1992. Consecuencias sanitarias del empleo de plaguicidas e la agricultura. Ginebra. 128 p.
- PANDIT, G., SHRAMA, S., SRIVASTAVA, P. y SAHU, S. 2002. Persistent organochlorine pesticide residues in milk and dairy products in India. Food Additives and Contaminants. Vol. 19, Nº 2, 153-157.
- PARATORI, C. 1999. Persistent organic pollutions. UNEP. Chemical Programme. Chap 21. pp. 21-24.
- PIMENTEL, D. 1998. Environmental and economic issues associated with pesticide use. International Conference on Pesticide Use in Developing Countries: Impact on Health and Environment. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 8-11 pp.
- PINTO, M., MONTES, L., TAMAYO, R. y CRISTI, R. 1987. Determinación de residuos de pesticidas órganoclorados en grasa perirrenal de bovinos. Agro Sur 15 : 62-74
- PINTO, M., MONTES, L., ANRIQUE, R., CARRILLO, R., DE LA BARRA, M. y CRISTI, R. 1990a. Residuos de plaguicidas órganoclorados en alimentos para uso animal. Agro Sur 18(2): 67-77

- PINTO, M., MONTES, L., PINTO, M. A., CRISTI, R. y VEGARA, G. 1990b. Residuos de pesticidas órganoclorados en leche pasteurizada de 12 plantas lecheras. Chile. Arch. Med. Vet., XXII, N° 1, 85-93
- PRADO, G., DIAZ, G., VEGA Y LEON, S., GONZALEZ, M., PEREZ, N., URBAN, G., GUTIERREZ, R., RAMÍREZ, A. y PINTO, M. 1998. Residuos de plaguicidas órganoclorados en Ciudad de México. Arch. Med. Vet, XXX, N° 1, 55 –65
- RODRÍGUEZ, L., LOYOLA, E., BETANZOS, R., VILLAREAL, T. y NIELSEN, B. 1994. Control focal del paludismo. Tratamiento focal usando quimioprofilaxis y rociado intradomiciliario con insecticida para el control del paludismo en el sur de México. Gaceta Médica del México. 130 (5): 313-319.
- SNELSON, J. y TUINTRA, L. 1979. Chlorinated insecticides. In: Federation Internationales de Laitiere. Bulletin. Chemical residues in milk and milk products. Document 113: 6-16 p.
- STAMBUK, J. 1970. Manual práctico de cromatografía de gases, Perkin-Elmer International. pp. 26-28
- TAMAYO, C., MONTES, S., PINTO, M. y CRISTI, V. 1987. Determinación de residuos de bifenilos policlorados (PCBs) en carnes bovinas de las IX y X regiones-Chile. Arch. Med. Vet. 19 (2): 21-25.
- THE ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY. 1983. The Agrochemical Handbook: Impreso en United Kingdom por Unwind Brothers Limited.

- THORNILL, E. y MATTHEWS, G. 1996. Equipo de aplicación de pesticida para uso en agricultura. Volumen 2. Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO 112/2. 150 p.
- TRAVIS, C., HATTEMER-FREY, H. y ARMS, A. 1988, Relationship between dietary intake of organic chemicals and their concentrations in human adipose tissue and breast milk. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 17, 473-478
- URIBE, A. 1999. Efecto de los procesos de elaboración de leche pasteurizada, queso y mantequilla, sobre los residuos de pesticidas órganoclorados. Tesis Lic. Ciencias de los Alimentos, Valdivia, Chile, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Ingeniería en Alimentos. 58 p.
- UTRERAS, J. 1991. Los plaguicidas y su reglamentación en Chile. *Plaguicidas*. Vol. 29: 44-58.
- WALISZEWSKI, S., VILLALOBOS-PIETRINI, R., GÓMEZ-ARROYO, S. y INFAZÓN, R. 2003. Persistent organochlorine pesticides in Mexican butter. *Food Additives and Contaminants*. Vol. 20, Nº 4. 361-367.
- WISTUBA, Y. 1991. Determinación de residuos de pesticidas órganoclorados en leche materna provenientes de las comunas de Lanco y San José de la Mariquina. Tesis Lic. Agronomía, Valdivia, Chile, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía., 67 p.
- WALISZEWSKI, S., VILLALOBOS-PIETRINI, R., GÓMEZ-ARROYO, S. y INFAZÓN, R. 2003. persistent organochlorine pesticide levels in

cow's milk samples from tropical regions of Mexico. *Food Additives and Contaminants*. Vol. 20, N° 3. 270-275.

WITTERS, H. 1998. Chemical speciation dynamics and toxicity assessment in aquatic systems. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 41: 90-95.

WOLFF, M. y TONIOLO, P. 1995. Environmental organochlorine exposure as a potencial etiologic factor in breast cancer. *Environmental Health Perspectives*. 103 (suppl. 7), 141-145.

**ANEXOS**

## ANEXO 1.

### Ejemplo del proceso de cálculo de la concentración de pesticidas

**Tabla datos estándar.**

Pesticida	Área	[ppm]	Tiempo
a-HCH	40753	0.10	5.977
b-HCH	27036	0.10	6.132
Lindano	208744	0.10	6.347
Heptacloro	3695791	0.10	7.335
Aldrín	4625075	0.10	8.219
Dieldrín	5020631	0.10	11.645

**Tabla datos muestras analizadas.**

Pesticida	Área	[ppm]	Tiempo
a-HCH	2778170	0.0500	8.083
b-HCH	5051818	0.3322	8.692
Lindano	106343	0.0025	8.836
Heptacloro	453676	0.0108	10.561
Aldrín	356927	0.0066	11.420
Dieldrín	96075	0.0035	13.879

En el ejemplo cálculo se considera la ecuación 3.1, para obtener la concentración del pesticida en base grasa. Los datos son tomados de las tablas mencionadas en este mismo Anexo.

$$C_i \text{ (ppm base leche)} = (1/p) \times (A_m/A_s) \times C_s \times V_e \times (V_s/V_m)$$

$$\begin{aligned}
 C_i \text{ (Heptacloro)} &= \left( \frac{1}{0.125(g)} \right) \times \left( \frac{453676}{3695791} \right) \times 0.10 \text{ (ppm)} \times 1 \text{ (mL)} \times 2 \text{ (\mu l)} \times 2 \text{ (\mu l)} \\
 &= \mathbf{0.0108 \text{ ppm}}
 \end{aligned}$$

## ANEXO 2

### Análisis estadísticos para cada uno de los pesticidas en estudio.

#### ANDEVA

Variable dependiente: (a+b) HCH

Fuente	Suma cuadrado tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significació
REGION	2,445E-	1	2,445E-	,411	,523
ESTACION	4,419E-	3	1,473E-	,248	,863
REGION * ESTACION	3,184E-	3	1,061E-	,179	,911
Error	5,231E-	88	5,944E-		

#### ANDEVA

Variable dependiente: Lindano

Fuente	Suma cuadrado tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
REGION	2,768E-	1	2,768E-	,031	,860
ESTACION	5,363E-	3	1,788E-	,203	,894
REGION * ESTACION	5,245E-	3	1,748E-	,020	,996
Error	7,742E-	88	8,798E-		

#### ANDEVA

Variable dependiente: Heptacloro

Fuente	Suma cuadrado tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
REGION	9,869E-	1	9,869E-	3,877	,052
ESTACION	5,515E-	3	1,838E-	,722	,541
REGION * ESTACION	3,903E-	3	1,301E-	,511	,676
Error	2,240E-	88	2,546E-		

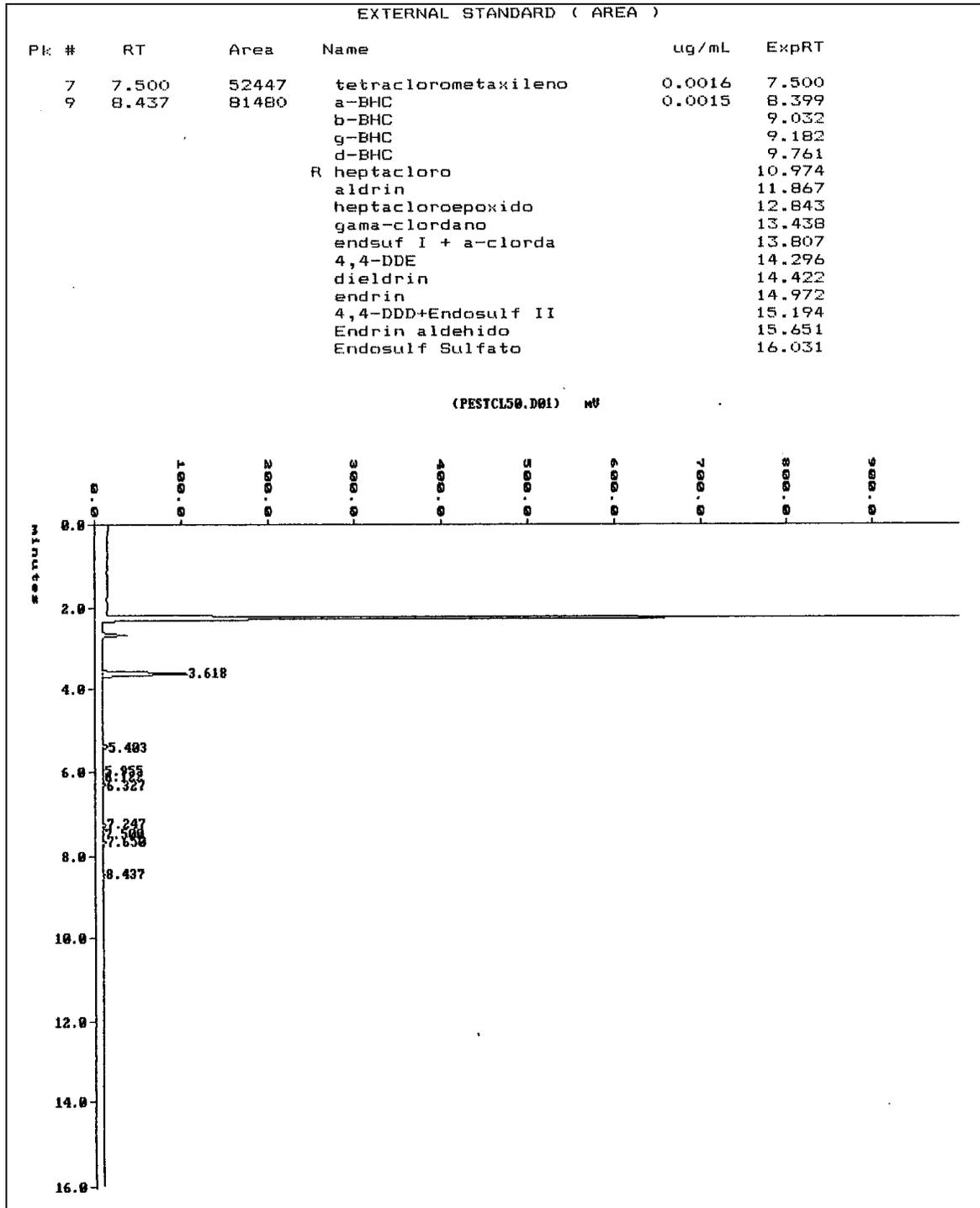
#### ANDEVA

Variable dependiente: Aldrín + Dieldrín

Fuente	Suma cuadrado tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
REGION	,550	1	,550	1,873	,176
ESTACION	,288	3	9,607E-02	,327	,806
REGION * ESTACION	,402	3	,134	,456	,714
Error	19,67	67	,294		

## ANEXO 3.

Cromatograma obtenidos de una muestra de leche cruda analizada por cromatografía, IX región.



## ANEXO 4.

Cromatograma obtenidos de una muestra de leche cruda analizada por cromatografía, X región.

