

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS

**Niveles de Residuos de Pesticidas Organoclorados en
Leche Pasteurizada UHT procedente de la IX y X
Regiones de Chile**

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

Carlos Javier Moraleda Muñoz

VALDIVIA – CHILE

2005

PROFESOR PATROCINANTE

Sr. MANUEL PINTO C.

Prof. de Química M. Sc. Food Science

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

PROFESORES INFORMANTES

Sra. LUZ HAYDÉE MOLINA C.

Prof. de Biología y Química

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Sr. BERNARDO CARRILLO L.

Ing. Agrónomo

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Antecedentes generales	3
2.2	Definiciones	12
2.3	Clasificación de pesticidas	14
2.4	Pesticidas organoclorados	15
2.5	Factores que condicionan la contaminación de la leche con residuos de pesticidas organoclorados	17
2.6	Características de la leche larga vida (UHT)	22
2.7	Características de los plaguicidas organoclorados evaluados en el presente estudio	25
2.7.1	Aldrín . Características físico-químicas.	25
2.7.2	Dieldrín . Características físico-químicas.	25
2.7.3	Heptacloro. Características físico-químicas.	28
2.7.4	Lindano. Características físico-químicas.	29
2.7.5	($\alpha+\beta$)-Hexaclorociclohexano	31
2.8	Situación de Chile, respecto al uso de plaguicidas	33
2.8.1	Legislación chilena sobre plaguicidas	34
3	MATERIAL Y MÉTODO	37
3.1	Muestreo	37

3.2	Tratamiento de las muestras	37
3.3	Diseño experimental	38
3.4	Reactivos, materiales y equipos	38
3.4.1	Reactivos	38
3.4.2	Materiales de vidrio y otros	39
3.4.3	Equipos	39
3.5	Análisis	40
3.5.1	Extracción de grasa láctea según FRANK <i>et al.</i> , (1975)	40
3.5.1.1	Principio del método	40
3.5.1.2	Procedimiento	40
3.5.2	Extracción de residuos de pesticidas en grasa láctea según FIL- IDF 75C (1991) método G (Steinwandter)	41
3.5.2.1	Principio del método	41
3.5.2.2	Sílica gel, activación y desactivación	41
3.5.2.3	Extracción de plaguicidas	42
3.5.3	Análisis cromatográfico en GLC-ECD	43
3.5.3.1	Principio del método	43
3.5.3.2	Equipo cromatográfico	43
3.5.3.3	Solución estándar	43
3.5.3.4	Condiciones operacionales del cromatógrafo	44
3.5.3.5	Expresión de resultados	44
3.5.3.6	Ejemplo de cálculo	45
4	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	46
4.1	Consideraciones generales	46
4.2	Resultados	47
4.2.1	Niveles de pesticidas organoclorados encontrados en	47

	muestras de leche UHT	
4.3	Discusión	51
5	CONCLUSIONES	59
6	RESUMEN SUMMARY	61
7	BIBLIOGRAFÍA	63
	ANEXOS	74

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Persistencia de pesticidas organoclorados en el tiempo	32
2	Límites máximos de residuos de pesticidas organoclorados permitidos en leche y productos lácteos e índice diario admisible, (LMP) e (IDA) respectivamente.	36
3	Niveles de pesticidas organoclorados en muestras de leche UHT procedentes de IX y X Regiones de Chile en el período junio 2003 – mayo 2004 (n=48).	47
4	Valores promedios de niveles de pesticidas organoclorados y la razón x/LMP en muestras de leche UHT de la Novena (n=24) y Décima Regiones (n=24).	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Principales vías de contaminación de la leche por pesticidas organoclorados.	21
2	Modelo actualizado de la estructura de la membrana del glóbulo graso lácteo, propuesto por Danthine <i>et al.</i> , (2000).	24
3	Estructura química de Aldrín y Dieldrín	26
4	Estructura química del Heptacloro	28
5	Estructura química del Lindano.	30
6	Estructura química del Hexaclorociclohexano	31
7	Niveles de residuos de pesticidas organoclorados medidos en muestras de leche UHT comparando las Regiones IX y X	49
8	Distribución estacional de niveles de pesticidas organoclorados en muestras de leche UHT, procedentes de la Novena Región durante el período junio 2003 - mayo 2004	50
9	Distribución estacional de niveles de pesticidas organoclorados en muestras de leche UHT, procedentes de la Décima Región durante el período junio 2003 - mayo 2004	50

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Concentración de pesticidas organoclorados en leche UHT (ppm)	75
2	Análisis de varianza univariante (5%) para los pesticidas organoclorados ($\alpha+\beta$)-HCH	77
3	Análisis de varianza univariante (5%) para el pesticida organoclorado γ -HCH (Lindano)	78
4	Análisis de varianza univariante (5%) para los pesticidas organoclorados Heptacloro+epóxido	79
5	Análisis de varianza univariante (5%) para los pesticidas organoclorados Aldrín+Dieldrín	80
6	Trazado Cromatografico de pesticidas organoclorados en leche UHT	81
7	Concentración de pesticidas en leche UHT	82

1. INTRODUCCIÓN

Los avances científicos y tecnológicos han puesto al alcance del hombre nuevos recursos de exploración, compuestos químicos y fármacos que le han permitido modificar con éxito el curso natural de muchas enfermedades en el ser humano y otros animales.

En el ámbito de la agricultura y en el área forestal se ha creado la necesidad de preservar los cultivos, incorporando desde hace décadas el uso de plaguicidas, cuyo empleo se masificó a través de todo el mundo, llegando a ser una industria altamente rentable desde el punto de vista económico. Los insecticidas organoclorados han sido de incalculable beneficio para la erradicación de enfermedades como la malaria y para proteger las cosechas de la destrucción por gorgojos, termitas, hormigas y otras plagas de insectos.

La mayor parte de los plaguicidas son productos sintetizados por el hombre y completamente extraños a los ciclos biológicos; ésto explica que un número importante de ellos no sean biodegradados y solo puedan ser parcialmente eliminados por los organismos vivos luego de ser incorporados por distintas vías a su proceso metabólico, determinando de esta manera su acumulación a lo largo de la cadena trófica alimentaria.

Se ha logrado establecer que la peligrosidad de los plaguicidas del grupo de los organoclorados está dada por su toxicidad crónica, la persistencia de sus residuos en productos agrícolas, en animales y el medio ambiente, todo ello incrementado por el efecto acumulativo que ellos tienen en tejidos adiposos de seres humanos y animales. Esta condición permite que la leche sea un vehículo a través del cual se pueden entregar cantidades poco previsibles de residuos persistentes de plaguicidas, ya sea mediante el proceso natural de lactancia

madre-hijo, animal-cría, o mediada por el consumo de leche cruda, fórmulas lácteas modificadas o de sus derivados.

Situada en este contexto, se encuentra la motivación de la presente investigación, orientada a cuantificar niveles de algunos residuos de plaguicidas organoclorados (p.o.), que podrían estar presentes en leches larga vida (UHT).

Este estudio se plantea bajo la hipótesis de que en las Regiones IX y X de Chile, la leche entera larga vida presenta niveles de residuos de pesticidas organoclorados superiores a los límites máximos permitidos por la Reglamentación Sanitaria vigente, para los compuestos Aldrín, Dieldrín, Heptacloro, Lindano y $(\alpha + \beta)$ -HCH.

El objetivo de la presente investigación, es evaluar la presencia de los residuos organoclorados Aldrín, Dieldrín, Heptacloro, Lindano y $(\alpha + \beta)$ -HCH, en leche entera UHT (Ultra High Temperature) procedentes de plantas lecheras de las IX y X Regiones de Chile y comparar dichos niveles con los aceptados por la actual Reglamentación Sanitaria.

Los objetivos específicos del estudio son:

- Cuantificar los niveles de pesticidas organoclorados presentes en leche entera pasteurizada UHT, procedentes de dos regiones seleccionadas.
- Determinar, de acuerdo a la procedencia de las leches estudiadas, en cuál de las dos regiones existen niveles de residuos de pesticidas organoclorados superiores a los estándares máximos permitidos por la Legislación Sanitaria vigente.
- Establecer las diferencias estacionales, respecto a los niveles de residuos de pesticidas organoclorados cuantificados en muestras de leches UHT.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Antecedentes generales

En el transcurso de los últimos 150 años, el hombre ha sintetizado diversos productos químicos con el objeto de satisfacer las necesidades crecientes del desarrollo tecnológico y mejorar su calidad de vida. Desde el inicio de la revolución industrial se estima que se han sintetizado más de 120 mil compuestos químicos (OLEA y FERNÁNDEZ, 2001). En este ámbito se encuentran los plaguicidas, definidos como “compuestos inorgánicos y orgánicos que se usan para combatir los parásitos que afectan al hombre, la agricultura y la ganadería, entre los que se incluyen acaricidas, antibióticos, fungicidas, herbicidas, insecticidas y rodenticidas” (BADUI, 1996); por otra parte el mismo autor define a los insecticidas como “sustancias que, aplicadas de diversas maneras, se usan para destruir los insectos nocivos”.

En un concepto más amplio la Organización Mundial de la Salud (OMS), ha definido un plaguicida como: “Cualquier sustancia o mezcla de sustancias, destinada a prevenir o controlar toda especie indeseable de plantas o animales. Incluye a cualquier sustancia que se emplee para combatir plagas que afecte el proceso de producción de alimentos para el hombre y animales o que se administren a estos últimos para combatir insectos o arácnidos que se encuentren dentro o sobre sus cuerpos”, citado por MONTES *et al.* (1986).

La utilización de plaguicidas ofrece ventajas importantes para el rendimiento de los cultivos, lo que hace que sea muy difícil prescindir de éstos en la práctica agrícola, no obstante, se debe tener en cuenta que se trata de sustancias que se deben utilizar con las adecuadas medidas de seguridad para evitar la toxicidad directa en los manipuladores de estos productos, como también su difusión en el medio ambiente y su posterior llegada a los consumidores de

alimentos contaminados, con sus potenciales efectos tóxicos en humanos y animales (GOODMAN y GILMAN, 1994).

Conocido es el hecho que la eliminación de una especie en un sistema ecológico da como resultado la multiplicación de aquellas que competían con ésta; producto de ello es que en numerosas ocasiones la aplicación de insecticidas ha provocado la eliminación de predadores dando como consecuencia la multiplicación incontrolada de la población de otros insectos, en muchas ocasiones más dañinos que aquellos que se pretendía eliminar (CARRASCO y PRIMO, 1980).

Por otra parte, existen peligros inherentes al manejo y manipulación de estas sustancias, dado que todos los plaguicidas son tóxicos en mayor o menor grado; es por ello que se han desarrollado diferentes líneas de investigación orientadas a estudiar la toxicidad y potenciación de éstos, los mecanismos de resistencia de los organismos a los cuales van dirigidos y también la estimación de los riesgos en el hombre en su condición de manipulador y consumidor de productos contaminados con residuos de plaguicidas (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, FAO 1982).

La toxicidad crónica de los productos organoclorados, independiente de la toxicidad aguda por ingestión, contacto o inhalación, está determinada, entre otros factores, por su capacidad de persistencia y acumulación en el organismo, principalmente en las grasas, constituyendo un grave peligro para la salud humana al estar el hombre expuesto al consumo de productos agrícolas o derivados de animales contaminados con estos residuos; habiéndose considerado como los más peligrosos a Clordano, Heptano, Aldrín, Dieldrín, Endrín y DDT (DOMÍNGUEZ, 1998).

Las características físico-químicas que han condicionado que el DDT sea de gran eficacia en el control de enfermedades transmitidas por insectos y en la protección de las cosechas, son también las más indeseables al tener en

cuenta la contaminación ambiental prolongada que es capaz de provocar. En estudios realizados por Woodwell, citados por LEBENTHAL (1985), se señala que los materiales radiactivos y los productos químicos liberados en el ambiente se concentran más en los organismos vivos con cada ascenso en el eslabón de la cadena alimentaria natural, desde la vida animal inferior hasta llegar al hombre. Este autor ha demostrado que en el extremo inferior de este continuo biológico, el DDT aparece en el plancton del agua a concentraciones de 0,04 ppm; en los pececillos asciende a 1 ppm y en un ave de carroña estas concentraciones son tan elevadas como 75 ppm. Por otra parte, en el mismo estudio se observó que en el extremo superior de la cadena biológica, este organoclorado se encuentra en concentraciones no mayores a 1,25 ppm en la leche de vaca, mientras que en 53 muestras de leche obtenidas de mujeres residentes en la misma zona geográfica la concentración media del DDT fue de 2,40 ppm con un intervalo de 1 a 6 ppm; a este respecto, los autores señalan que los depósitos corporales totales de DDT, al parecer son regulados por factores específicos, siendo uno de ellos la ingesta de dietas ricas en calorías de origen graso.

La ingestión repetida de pequeñas cantidades de residuos de plaguicidas incorporados a los alimentos, pudiera no provocar alteraciones agudas en el organismo, pero sí tener consecuencias nocivas para la salud humana a largo plazo; ésto se fundamenta en que por sus propiedades de liposolubilidad se favorece la acumulación de pesticidas organoclorados en las grasas de vegetales, animales y en seres humanos (LUQUET *et al.*, 1974).

Son numerosos los estudios realizados en distintas latitudes; todos ellos orientados a determinar la presencia de residuos de plaguicidas en productos lácteos y derivados, así como también hallazgos en carnes. En uno de ellos se midieron residuos de p.o. en leche pasteurizada comercializada en la ciudad de México, encontrándose niveles que excedían los límites máximos aceptados para ($\alpha+\beta$)-HCH (PRADO *et al.*, 1998) Por otra parte, otros investigadores al

realizar estudios tendientes a determinar niveles de plaguicidas organoclorados en mantequilla mexicana, encontraron que los valores promedios de éstos no sobrepasaban los límites máximos permitidos (VEGA *et al.*, 2000).

Estudios realizados en Chile por PINTO *et al.* (1990b), al determinar residuos de pesticidas organoclorados en leche pasteurizada de 12 plantas lecheras, revelaron que los porcentajes de muestras cuyos niveles de p.o. sobrepasaron los límites máximos permitidos (LMP) fueron los siguientes: ($\alpha+\beta$)-HCH (68,8%), Aldrín+Dieldrín(38,5%), Heptacloro+epóxido (38,5%), HCB (27,1%), DDT y metabolitos (4,2%), Endrín (14,6%) y Lindano (γ -HCH) (20,8%); con valores para la relación x/LMP de 3,09; 1,28 y 3,75 para Aldrín+Dieldrín, Heptacloro+epóxido y ($\alpha+\beta$)-HCH respectivamente. Por otra parte, en el mismo estudio los autores señalan que el proceso térmico de pasteurización no destruye los pesticidas organoclorados mencionados.

Con respecto a la capacidad que tienen los residuos de p.o. para concentrarse en tejido graso y en carne bovina, éste es un aspecto que también ha sido estudiado y confirmado en investigaciones realizadas en Chile por PINTO *et al.* (1986; 1987).

Por otra parte, PINTO *et al.* (1990a), han señalado que entre los factores condicionantes de la presencia de residuos de plaguicidas organoclorados en la grasa láctea se deben mencionar a sus propiedades fisicoquímicas de persistencia, liposolubilidad y bioacumulación, agregando a ellas el uso excesivo de estos compuestos en las prácticas agropecuarias.

En opinión de PRADO *et al.* (1998), los riesgos de contaminación del ganado vacuno lechero con residuos de pesticidas organoclorados se derivan de la presencia de éstos en los alimentos para uso animal, al ser contaminantes de praderas, heno, concentrado, ensilajes y otros dentro del contexto de la contaminación ambiental de aguas, aire y suelos.

En salud humana y animal, el control de enfermedades por ectoparásitos como sarna y pediculosis han motivado el uso de Lindano, isómero gama del Hexaclorociclohexano, el cual fue introducido en 1952 y denominado con ese nombre en homenaje a su descubridor *VAN der LINDEN*, (CARRASCO Y PRIMO, 1980), es un insecticida de amplio espectro, que también se ha usado para el tratamiento de las semillas previo a su siembra. Debido a sus conocidos efectos nocivos sobre el Sistema Nervioso Central, el uso actualmente restringido, pero no totalmente erradicado de este compuesto organoclorado, constituye otra fuente potencial de contaminación ambiental (VADEMÉCUM, 2004).

La persistencia de residuos de plaguicidas organoclorados en el medio ambiente, se ha demostrado también por medio de estudios que han evidenciado su presencia en niveles significativamente altos en leche humana; como lo señalan investigaciones realizadas por diferentes autores en las provincias de Valdivia (HERMOSILLA, 1989), Cautín (CAMPOS, 1990), Osorno (BECERRA, 1991) y Llanquihue (MUÑOZ, 1993).

De acuerdo a estudios realizados por Albert, citado por TRIVIÑO (1982), de las cantidades de residuos de plaguicidas organoclorados ingeridas se absorbe un 85% en el tracto digestivo, pero si el alimento transportador contiene mayor cantidad de lípidos como es el caso de la leche materna, estas cantidades son superiores. El organismo elimina estos residuos por medio de la leche, siendo ellos variables según la especie; la mujer elimina aproximadamente el 12,5% de su contenido interno, pero la vaca sólo el 1,5%; este hecho condiciona que en la leche humana el contenido de estos residuos sean 50 a 100 más elevados que aquellos encontrados en la leche de vaca, de acuerdo a información comunicada por Olszyna-Marzys y citada por TRIVIÑO (1982).

Dos grupos de compuestos orgánicos clorados han provocado inquietud creciente por sus efectos nocivos sobre la salud a largo plazo; ellos son los *policlorobifenoles* (PCBs) y las *dioxinas*, puesto que ambos persisten durante

varios años en el ambiente y en el tejido graso en particular (HIGA *et al.*, 1990). Por otra parte, los PCBs también se usan aleados con algunos plaguicidas para aumentar su efectividad; éste es el caso del Lindano, el que luego de ser mezclado con estas sustancias a concentraciones entre 5 y 25%, su efectividad como plaguicida se ve incrementada hasta en 10 veces, ésto de acuerdo a lo informado por Kadis en 1996, citada por PRADO *et al.* (2002).

En mediciones de residuos de pesticidas y *policlorobifenoles* en tejido graso mamario en humanos, se encontraron niveles más elevados de estas sustancias en mujeres con cáncer mamario al ser comparados con aquellos encontrados en mujeres que presentaban enfermedad mamaria benigna; esta situación en opinión del autor, podría ser indicador de la acción de tóxicos ambientales en la ocurrencia de cáncer mamario (FALCK *et al.*, 1992). Esta hipótesis se apoya en el hecho de que algunos compuestos organoclorados actúan como agonistas y antagonistas estrogénicos, tanto *in vitro* como en sistemas experimentales realizados en animales. Investigaciones posteriores realizados por STELLMAN *et al.* (2000), respecto a la presencia de pesticidas organoclorados y Bifenoles policlorados en tejido adiposo mamario, indican que no hubo diferencias significativas entre los niveles de residuos de pesticidas entre los pacientes con cáncer de mama y el grupo control sano. Por otra parte, otros estudios epidemiológicos también tienden a descartar a estos componentes, al menos como causantes directos de cáncer mamario, (CALLE *et al.*, 2002),

Existen otros estudios, entre ellos los realizados por CHARLIER *et al.* (2003), los que han demostrado la presencia de Diclorodifeniltricloroetano (DDT) y Hexaclorobenceno (HCB) en concentraciones séricas más elevadas en pacientes con cáncer de mama comparados con controles normales. Por otra parte, estos autores no encontraron diferencias en los niveles de pesticidas organoclorados séricos en pacientes portadores de cáncer de mama, con o sin la administración de estrógenos como parte de sus tratamientos.

MEINERT *et al.* (2000), han puesto en evidencia que la manipulación de insecticidas por parte de los padres se asocia a un incremento en la incidencia de leucemia o linfomas en sus hijos. Por otra parte, si estos menores viven en granjas y se agrega a ello el que sus padres tengan una actividad laboral directamente relacionada con la aplicación de insecticidas, el riesgo de presentar leucemias o linfomas puede ser mucho más elevado (ALEXANDER *et al.*, 2001).

En los últimos años ha cobrado importancia la potencialidad que tienen algunos compuestos químicos presentes en el medio ambiente, entre ellos plaguicidas organoclorados, los que al ser ingeridos como contaminantes de alimentos se comportan en el organismo como sustancias xenobióticas. Estos xenobióticos, son compuestos que siendo diferentes en su estructura química, tienen una acción similar al de algunas hormonas (RONCO *et al.*, 2001a). La industria química produce gran cantidad de estos compuestos xenobióticos, cuya estructura química difiere considerablemente de los compuestos orgánicos naturales; algunos de ellos con grupos halógenos y nitrogenados son utilizados como propelentes, refrigerantes, disolventes, Bifenoles policlorados (PCBs), plásticos, detergentes, explosivos y plaguicidas, teniendo todos ellos, la propiedad de ser resistentes a la biodegradación. Otros, en cambio, se degradan muy lentamente, de un modo co-metabólico sólo en presencia de un segundo sustrato que es empleado como fuente primaria de energía o dando lugar a residuos, de tal manera que estos pueden ser convertidos en compuestos poliméricos de alta peligrosidad al ser diseminados en el ambiente (INTERGOVERNMENTAL FORUM ON CHEMICAL SAFETY, IFCS 2003).

La importancia de estas sustancias radica en el hecho que el origen de algunas enfermedades se ha vinculado con la exposición a xenobióticos. En efecto, algunas alteraciones o malformaciones físicas observadas en la población humana, entre ellas cáncer mamario, testicular y prostático, entre otros, estarían asociados a la acción de xenobióticos ambientales. Su mayor

relevancia está dada por el momento en que estos compuestos entran en contacto con los organismos vivos; en el caso del hombre, mientras más precoz se da esta exposición en el continuo proceso de desarrollo desde la concepción hasta la prepubertad, éste será particularmente más susceptible a ser dañado en forma definitiva, provocando con ello alteraciones irreversibles (BIRNBAUM y FENTON, 2003).

Se sabe, por otra parte, que el niño es un sujeto muy frágil, condicionado entre otros factores por el hecho que sus órganos (hígado, riñón, tubo digestivo), encargados de detoxificar y depurar al organismo de la presencia de sustancias potencialmente nocivas, son inmaduros, especialmente en el primer año de vida (REED y GAL, 2000).

En estudios de ensayos de proliferación celular se ha observado que existen líneas celulares, como las de tumor mamario humano MCF7, que solamente proliferan en un medio con estrógenos; pero al incluir en el medio de incubación un compuesto xenobiótico que imite la acción proliferativa del estradiol, se activará la multiplicación de esas células, permitiendo con ello identificar agonistas de estrógenos (SOTO *et al.*, 1994). En este estudio se evaluó además, el efecto estrogénico que sobre células humanas sensibles tienen algunos pesticidas, entre ellos Endosulfán, Toxaphene y Dieldrín, demostrando que éstos tienen una acción similar al DDT y con efecto estrogénico acumulativo cuando se agrega más de un pesticida al medio de cultivo celular.

Por otro lado, ZOU y MATSUMURA (2003), utilizando el mismo tipo de células (MCF-7) encontraron que al ser expuestas a la acción de beta-HCH en forma continua, no sólo se producía la transformación celular, sino que también estimulaba su capacidad invasiva, concluyendo estos autores que los cambios bioquímicos inducidos por este compuesto organoclorado son suficientes para promover la expresión fenotípica de las células previamente transformadas.

Por otra parte, también se han realizado estudios en peces para evaluar la acción de contaminantes con acción estrogénica en ambientes acuáticos. En tal sentido, en investigaciones desarrolladas por SUMPTER y JOBLING (1995), se concluyó que los contaminantes provenientes de los afluentes con aguas contaminadas constituyen un factor de riesgo al incorporarse al proceso de vitelagenosis de huevos de peces, con inciertos efectos sobre el proceso reproductivo posterior. Estos hallazgos tienen la máxima importancia por el hecho que algunos de estos compuestos, por su capacidad de acumularse en tejidos grasos, como es el caso de los pesticidas organoclorados, pueden llegar a afectar al hombre y otras especies animales en su condición de consumidores finales en el contexto de la larga cadena trófica alimentaria.

PRADO *et al.* (2002), señalan que la contaminación de las leches con compuestos xenobióticos es actualmente considerado como un problema generalizado con repercusiones en todo el mundo, viéndose afectado por las variaciones geográficas, climáticas, culturales y socioeconómicas de cada lugar. El mismo autor agrega que: “En 1971, la Federación Internacional de Lechería consultó a los expertos sobre la identidad de los compuestos más peligrosos y prevaleció el contenido de los plaguicidas organoclorados en leche y sus derivados; treinta años después, si bien su uso ha declinado la presencia de ellos permanece”.

Estudios realizados en la Sexta Región de Chile, revelan una clara asociación entre la exposición a pesticidas y una mayor frecuencia de malformaciones congénitas, con una tasa de prevalencia del 41,24%. (ROJAS *et al.*, 2000). Señalan los autores de este estudio, que la toxicidad de los pesticidas puede resultar de un efecto teratógeno por exposición in útero del sujeto en formación o también a través de la acción mutagénica en los gametos de los progenitores en etapas tempranas de la gestación.

En opinión de estos autores (ROJAS *et al.*, 2000), todos estos antecedentes constituyen motivos para iniciar procesos de investigación sobre el tema, y de

esta forma, llegar a conocer los mecanismos de acción de los tóxicos aislados, pero sobre todo, de las interacciones entre diversas moléculas que potencian la acción tóxica.

Un aspecto que se debe tomar en cuenta al evaluar el impacto del ambiente sobre la salud humana, es el análisis de la interacción del agente contaminante, cualquiera sea su naturaleza, con los factores físicos, químicos y biológicos del propio ambiente, bajo la perspectiva de un enfoque de dinámica ambiental. Esto permite identificar los mecanismos de transporte, desplazamiento y transferencia de los contaminantes en el medio, los procesos de transformación y el destino que alcanzan, así como los factores propios del agente y del medio físico que inciden en tales procesos (VARGAS, 2004).

2.2 Definiciones

- a) Adsorción: Fenómeno de naturaleza física o química por el que las moléculas de un fluido, al incidir sobre una superficie sólida, quedan retenidas un determinado tiempo, lo que ocasiona un aumento de su concentración relativa. La retención producida por fuerzas de enlace químico recibe el nombre específico de adsorción química o quimisorción (BADUI, 1996).
- b) Dosis letal media (DL_{50}): Dosis de un compuesto que ocasiona la muerte al 50% de la población de animales de prueba; la vía de administración puede ser oral, parenteral (inyectable), dérmica o por inhalación; la vía oral es la más común y resulta de la ingestión de una sola dosis de tóxico. Al mencionar la DL_{50} se debe precisar la especie del animal, la vía de administración y la cantidad del compuesto en relación con el peso del animal (BADUI, 1996).

- c) Ingesta Diaria Admisible (IDA): Cantidad aceptable de un compuesto, que puede consumir el hombre diariamente, incluso de por vida, sin que represente riesgo para su salud (BADUI, 1996).
- d) Limite máximo para residuos (LMR): Concentración máxima de un residuo de pesticida que se permite o reconoce legalmente como aceptable en o sobre un alimento, producto agrícola o alimento para animales (FAO, 1986).
- e) Lixiviación: Proceso de extracción con un disolvente de las sustancias solubles que contiene un sólido (BADUI, 1996).
- f) Persistencia: Se define como la capacidad de un producto químico para conservar su integridad molecular y, por consiguiente, las características físicas, químicas y funcionales en el medio ambiente a través del cual es transportado y distribuido después de haberse vertido al mismo (FAO, 1982).
- g) Residuos: Cualquier sustancia especificada presente en alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales como consecuencia del uso de un plaguicida. El término incluye cualquier derivado de un plaguicida, como producto de conversión, metabolitos y productos de reacción, y las impurezas consideradas de importancia toxicológica (FAO, 1986).
- h) Residuo de plaguicida: Incluye tanto los residuos de procedencia desconocidas o inevitables (por ejemplo, ambientales), como los derivados de los usos conocidos de la sustancia química (FAO, 1986).
- i) Riesgo: Frecuencia prevista de efectos no deseables derivados de la exposición al plaguicida (FAO, 1986).

- j) Toxicidad: Propiedad fisiológica o biológica que determina la capacidad de una sustancia química para causar perjuicio o producir daños a un organismo vivo por medios no mecánicos. (FAO, 1986).

2.3 Clasificación de pesticidas

Según González, citado por WISTUBA (1991), los pesticidas de acuerdo a sus características químicas, se pueden clasificar de la siguiente manera:

- Dinitroderivados : (ej: Selinol, Gebutox)
- Organoclorados : (ej: Gesarol, Heptacolor, HHDN)
- Organofosforados : (ej: Parathión, Gusathión)
- Carbamatos : (ej: Sevin, Furadan)
- Piretrinas y piretroides : (ej: Ambush, Belmark)
- Organoestañados : (ej : Peropal, Plictrán)

De acuerdo al tiempo de persistencia de la acción de los pesticidas se ha propuesto la siguiente clasificación (BASUALTO, 1971):

- No persistentes : (1 – 12 semanas), ej: organofosforados y carbamatos.
- Moderadamente persistentes: (1-18 meses), ej: la mayoría de los herbicidas.
- Persistentes : (2-5 años), ej: hidrocarburos clorados.
- Permanentes : No tienen degradación, por lo tanto su duración real es indefinida, estos incluyen tóxicos metálicos tales como Mercurio, Arsénico, Plomo.

2.4 Pesticidas organoclorados

"Se ha calculado que en los últimos 25 años se han aplicado 20.000 millones de libras de insecticidas sobre el planeta y de ellos 3 mil millones han sido de DDT. Las estadísticas han estimado que en México, en la década de los 70, el 1% de la producción mundial de DDT fue utilizado en el cultivo de algodón y que su uso es el mayor de Latinoamérica "(PRADO *et al.*, 2002).

Entre los plaguicidas organoclorados derivados del Hexaclorociclohexano, de los Ciclodienos y los aromáticos, el β -HCH, el epóxido de Heptacloro y el DDE han sido considerados como los más persistentes por sus características moleculares y metabólicas. Estos son compuestos sintéticos cuya estructura química corresponde a los hidrocarburos clorados, están constituidos por uno o más anillos bencénicos en ocasiones enlazados además a una molécula de etano, como es el caso del DDT y los compuestos resultantes del metabolismo de éste que dan origen al DDD y DDE (LUQUET *et al.*, 1974). Se caracterizan porque su solubilidad es baja en agua y elevada en la mayoría de los disolventes orgánicos; en general poseen baja presión de vapor y una alta estabilidad química, así como una notable resistencia al ataque de los microorganismos (KIM y HARMON, 1969).

Su liposolubilidad es la causa de la acumulación de los pesticidas organoclorados y sus residuos en grasas vegetales, animales y humanas, en donde se produce su bioacumulación (LUQUET *et al.*, 1974). Esta condición ha sido determinante para que este grupo de pesticidas haya sido vastamente estudiado desde el momento en que se describieron los primeros efectos secundarios derivados del uso de DDT, compuesto que fue introducido en la práctica agrícola y control del paludismo en 1945 (GOODMAN y GILMAN, 1994).

La prohibición del uso de DDT se fundamentó en el hecho que es un pesticida que puede permanecer hasta en un 50% en el suelo luego de 10 a 15 años de

su aplicación, describiéndose que puede producir el adelgazamiento de las cáscaras de los huevos de aves y también por su hallazgo en la leche humana y de vaca, como etapa final de la cadena trófica alimentaria (VEGA DE KUYPER, 2002).

Respecto a la acción deletérea de alguno de estos compuestos, el mismo autor antes citado, señala que el Aldrín puede matar peces y pájaros, el Dieldrín es nocivo para las especies acuáticas, especialmente los sapos; el Endrín se acumula en los tejidos de los animales y al Heptacloro se le responsabiliza por la declinación en el número de aves silvestres y de ser cancerígeno para el ser humano.

Estas propiedades permiten comprender el comportamiento de estos compuestos en el ambiente y en los seres vivos, permitiendo predecir que estos plaguicidas y sus productos de biotransformación se acumularán en el tejido graso del organismo humano y animal con el riesgo potencial de su posterior paso al feto a través de la placenta (WALISZEWSKI *et al.*, 2000; COSTABEBER y EMANUELLI, 2002). También en estudios realizados en Chile se ha demostrado que el depósito de estos residuos de plaguicidas se produce en tejidos de animales (PINTO *et al.*, 1987).

La baja presión de vapor de ellos y su gran estabilidad físico-química condicionan la persistencia de estos plaguicidas en el medio ambiente. En efecto, algunos de los plaguicidas organoclorados son compuestos que persisten en el ambiente acumulándose en aguas y sedimentos de lagos, mencionándose entre éstos a $(\alpha+\beta)$ -HCH, Lindano, Heptacloro, Aldrín, Endrín, pp'-DDT, pp'-DDE y pp'-DDD; hallazgos éstos, puestos en evidencia a través de estudios realizados en Chile por BARRAL *et al.* (2001).

Los plaguicidas organoclorados pueden ingresar al organismo por ingestión, inhalación o por contacto a través de la piel y mucosas, (PARIS y RÍOS, 2001; HERNÁNDEZ *et al.*, 2000); su absorción en grandes cantidades se facilita

cuando estos plaguicidas se hayan disueltos en grasa animal o vegetal, siendo la penetración dérmica de ellos muy variable de acuerdo a la especie animal. Este es uno de los fundamentos de por qué en el caso particular de los seres humanos, el uso de Lindano para el tratamiento de sarna y pediculosis esté contraindicado en niños menores, debido a que en ellos se produce mayor absorción a través de la piel, con evidente riesgo de provocar compromiso neurológico como manifestación de intoxicación aguda (PARIS y RÍOS, 2001).

2.5 Factores que condicionan la contaminación de la leche con residuos de pesticidas organoclorados

Los compuestos orgánicos que persisten en el medio ambiente tienden a acumularse en la grasa del cuerpo humano, como lo demuestran estudios realizados por FALCK *et al.* (1992), quienes encontraron residuos de los pesticidas DDE, DDT, Hexaclorobenceno, Heptacloro epóxido y Bifenoles policlorados en tejido graso mamario, tanto en mujeres con cáncer de mama, como en portadoras de patología mamaria benigna (no cancerosa).

Entre los factores que pueden incidir en la llegada y posterior acumulación de estos residuos de plaguicidas en el tejido animal se encuentra la presencia de ellos en empastadas y alimentos concentrados para animales; en tal sentido, estudios realizados en la provincia de Valdivia por PINTO *et al.* (1990a), demuestran la presencia de residuos de Lindano, Heptacloro, Heptacloro epóxido, Dieldrín, Aldrín, Endrín, DDT y metabolitos, en pradera, heno y concentrado para animales, a excepción de Dieldrín y Aldrín, los que no se detectaron en muestras de heno y concentrado respectivamente. Esto se correlaciona con otro estudio de PINTO *et al.* (1990b), los que al evaluar la presencia de residuos de plaguicidas organoclorados en leches pasteurizadas provenientes de tres plantas de la provincia de Valdivia, encontraron un elevado porcentaje de muestras positivas para Aldrín+Dieldrín, Heptacloro epóxido, Lindano, DDT+ metabolitos y $(\alpha + \beta)$ -HCH, siendo éstos 64,6%, 58,3%, 43,7%, 60,4% y 77,1% respectivamente, con porcentajes de muestras con valores por

sobre el límite de tolerancia permitido de 43,7%, 58,3%, 29,2%, 4,2% y 75,0% en el mismo orden de los plaguicidas citados.

Con respecto a la importancia del forraje como fuente de contaminación por pesticidas organoclorados para los animales, estudios realizados por Heeschen, citados por MARTÍNEZ y JUÁREZ (1979), indican que una vaca produce leche con una concentración de estos residuos hasta diez veces superior a la del forraje ingerido.

En otras investigaciones realizadas en Chile, se han cuantificado las concentraciones de pesticidas organoclorados en grasa perirrenal de animales bovinos de distintas categorías procedentes desde Malleco a Palena (PINTO *et al.*, 1987). Los pesticidas y respectivos porcentajes de muestras cuyas concentraciones fueron superiores a los máximos permitidos correspondió a: Lindano (16,6%), ($\alpha+\beta$)-HCH (67,6%), Mirex (2,7%) Metoxicloro (88,5%) y Hexaclorobenceno (69,5%).

Existen evidencias de que los residuos organoclorados son eliminados a través de la leche, transformándose de esta manera en una fuente potencial de aporte de sustancias nocivas para las crías, en una etapa temprana de su desarrollo en la que la leche es la primera y única fuente de nutrientes a partir del momento de su nacimiento, tanto para el caso del hombre como de otros mamíferos. Estudios realizados por CAMPOS (1990), midiendo residuos de pesticidas organoclorados en leche materna, en la provincia de Cautín, demostraron la presencia de estas sustancias en el 100% de las muestras, siendo el DDT, el grupo del Heptacloro y ($\alpha+\beta$)-BHC, los residuos más frecuentemente encontrados; detectándose además Lindano, HBC y Aldrín.

Por otra parte, en un estudio realizado en la provincia de Osorno por BECERRA (1991), comparando leches provenientes de madres con residencia urbana y rural, medidos para cada una de ellas en 3 momentos distintos a partir del momento del parto con intervalos de 20 días entre las tomas de muestras de

leche, este autor demostró que el pesticida encontrado con los niveles más elevados correspondió al Heptacloro epóxido en el área urbana y DDT para las leches provenientes de madres con residencia rural; en general no se encontró una diferencia mayor en cuanto al grado de contaminación al comparar ambas zonas geográficas.

Estudios de impacto ambiental, en relación con la prohibición en el uso de pesticidas organoclorados y presencia de residuos en leche de vaca, se han realizado en el sur de Canadá por FRANK *et al.* (1975), demostrando la disminución en los niveles de DDT en leches desde 0,20 ppm en 1967 a 0,05 ppm en 1973; de igual manera declinaron los niveles de Dieldrín desde 0,044 ppm a 0,015 en el mismo período, mientras que los niveles de Lindano y Heptacloro epóxido en grasa láctea llegaron a niveles prácticamente no detectables.

Por otra parte, LUQUET *et al.* (1974), en una revisión acerca de los residuos de pesticidas organoclorados presentes en leches de procedencia animal y humana, destacan que estos compuestos han sido sistemáticamente estudiados por su afinidad con la grasa láctea. Señalan además estos autores, que los contaminantes característicos de la leche francesa son (α , β , γ)- HCB, Heptacloro epóxido y Dieldrín, destacando a su vez que los alimentos animales contaminados son la principal fuente por la cual éstos adquieren la contaminación con residuos de pesticidas, condicionando de esta forma su posterior eliminación junto con la grasa láctea.

La leche, por sus características físico-químicas y su alto contenido de grasas, constituye un medio apto para el depósito y transporte de residuos de pesticidas organoclorados, y por su alto poder lipofílico se favorece la bioacumulación y biomagnificación de éstos en los mamíferos. Si se toma en consideración, tal como lo señala AMIOT (1991), que la grasa de la leche se encuentra en forma de glóbulos esféricos suspendidos en la fase acuosa del suero, y que a su vez el glóbulo graso es una masa de triglicéridos envuelta por una membrana

lipoproteica, ambas situaciones estarían condicionando las características que permiten la fijación de los pesticidas organoclorados a su superficie.

En investigaciones realizadas por HUGUNIN y BRADLEY (1971), al trabajar con DDT y Dieldrín, estudiando su distribución en algunos componentes lácteos, observaron que estos organoclorados se fijan preferentemente en la capa superficial de los glóbulos de grasa; señalando además, que existen entrelazamientos de los pesticidas a las proteínas de la membrana del glóbulo de grasa. Comprobaron también estos autores, que Dieldrín y DDT mantenidos en soluciones con diversas proteínas, migraban en electroforesis unidos a las bandas de proteínas. Concluyen además, que la capacidad de enlazar pesticidas por parte de las proteínas lácteas sería comparable al de las proteínas del suero sanguíneo; señalando que de esta forma podrían existir micelas conformadas por fosfolípidos y pesticidas organoclorados en la fase acuosa.

Por otra parte, respecto a factores contaminantes ambientales, es sabido que los terrenos agrícolas sometidos a procesos de producción intensiva han requerido del uso permanente de plaguicidas o insecticidas para preservar la producción, aceptándose hasta no hace mucho tiempo el empleo de insecticidas organoclorados persistentes. Esta situación se ha hecho crítica con el cambio de uso de las tierras, de producción agrícola a ganadera, estando expuesta la masa ganadera a la contaminación de pastos, aguas y otros productos de alimentación (WILLET *et al.*, 1993). La necesaria y obligada aplicación de pesticidas para proteger a los productos agrícolas produce un impacto negativo tanto en el hombre como en los animales y el medio ambiente que lo rodea, señala VEGA DE KUYPER (2002), y agrega “existe, no obstante, una tendencia mundial a aplicar estos productos fitosanitarios en menor cantidad para minimizar su impacto en los seres a los que no van dirigidos y al ambiente”.

La existencia de múltiples factores medioambientales que condicionan la contaminación de alimentos, entre ellos los lácteos y derivados, con sustancias que pueden ser nocivas para el ser humano y los animales a corto, mediano y largo plazo, plantean la necesidad de, junto con legislar, tener presente la forma en que se relaciona cada uno de ellos. En este aspecto, es útil tener como guía de análisis el diagrama presentado por LUQUET *et al.* (1974), en que se vinculan los distintos factores potencialmente determinantes de la contaminación de productos lácteos con pesticidas e insecticidas (FIGURA 1).

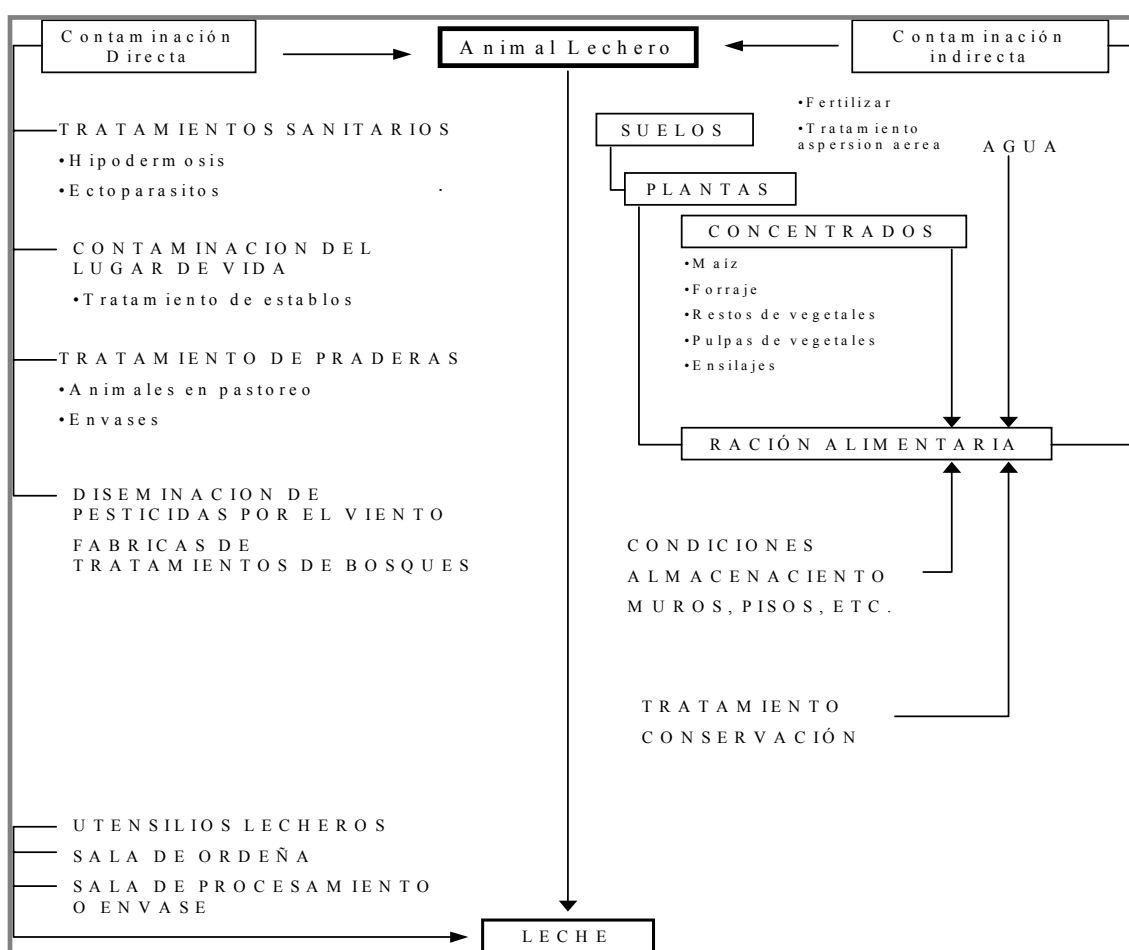


FIGURA 1 Principales vías de contaminación de la leche por pesticidas organoclorados.

FUENTE: LUQUET *et al.* (1974).

2.6 Características de la leche larga vida (UHT)

El tratamiento a ultra alta temperatura (**UHT**) es el procedimiento al que se somete uniformemente la totalidad de la leche u otros productos lácteos a una temperatura entre 130 a 145°C durante 2 a 4 segundos u otra combinación tiempo-temperatura de tratamiento equivalente; bajo estas condiciones se asegura la destrucción de los microorganismos patógenos y gran parte de la flora saprofita, para luego ser envasada en condiciones asépticas (AMV EDICIONES, 1994).

El tratamiento de la leche UHT se conoce desde hace más de un siglo, sin embargo, sólo en 1961 fue posible el envasado aséptico mediante el procedimiento implementado por la compañía sueca Tetra-Pak, comercializando la primera envasadora aséptica (AMIOT, 1991).

Terminado el proceso de ultra pasteurización de la leche, se obtiene un producto de alta calidad y con una vida prolongada de hasta 180 días en estantería a temperatura ambiente. Se debe destacar, que la leche larga vida es útil cuando no se dispone de una adecuada cadena de refrigeración para su distribución y comercialización. Otra ventaja de la leche larga vida es la eliminación del aire en el envase, evitando con ello la oxidación de las grasas, reacción que resulta ser altamente indeseable; por lo tanto, dentro del envase la leche permanece libre de cualquier tipo de contaminación (TETRA PAK, 2000).

Por otro lado, AMIOT (1991), resume los objetivos que se persiguen con el tratamiento UHT, en los siguientes tres puntos: 1) asegurar su estabilidad y larga conservación para satisfacer las exigencias comerciales; 2) eliminar los microorganismos patógenos y sus toxinas que puedan alterar la salud del consumidor y 3) destruir todos los microorganismos capaces de proliferar durante el almacenamiento.

Siendo grandes las ventajas que representa este proceso para la industria lechera, se debe tener en cuenta que con su aplicación se producen cambios químicos en la leche, entre ellos la desnaturalización de las proteínas del suero, particularmente de la β -lactoglobulina, las que interaccionan con la κ caseína, afectándose de esta forma las propiedades de la superficie micelar (FENNEMA, 1993). Este fenómeno implica una liberación de grupos sulfidrilos (SH-), los que tienen un efecto determinante sobre el sabor del producto. Por otra parte, las propiedades reductoras de estos grupos sulfidrilos retrasan las reacciones de oxidación de la leche durante el almacenamiento (AMIOT, 1991).

En los últimos años, en el ámbito de la producción y procesamiento de productos lácteos y sus derivados, se ha dado creciente importancia a las propiedades funcionales y al rol de la membrana del glóbulo graso en la protección de la lipólisis de la leche al ser sometida a procesos de agitación u homogenización; así como también se han estudiado los efectos que la homogenización tiene sobre la distribución de las proteínas y la proteólisis en la leche UHT.

GARCÍA-RISCO *et al.* (2002), compararon las modificaciones de las proteínas del lactosuero, de la caseína y la proteólisis en leches UHT sometidas o no previamente al proceso de homogenización, luego de mantenerse almacenadas durante 120 días a temperatura de 20°C. Observaron que la homogenización favoreció la adsorción de la caseína y las proteínas del lactosuero sobre la membrana de los glóbulos de grasa láctea, así como también, que los cambios morfológicos de las micelas de caseína dieron lugar a la formación de partículas micelares pequeñas, difícilmente sedimentables por centrifugación. Por otra parte, la homogenización también ocasionó la desnaturalización de las proteínas del lactosuero y detuvo las reacciones enzimáticas dependientes de la actividad de la proteinasa, glicosidasa y fosfatasas residuales. La homogenización de la leche antes del tratamiento UHT condujo a tener niveles más bajos de las enzimas que contribuyen al deterioro durante el

almacenamiento. Este fenómeno, junto con un aumento en la formación de complejos entre κ -caseína y β -lactoglobulina, podrían ser responsables de la reducción de la degradación proteolítica.

DANTHINE *et al.* (2000), describen al glóbulo graso de la leche como una estructura esférica cuyo diámetro varía de 0,1 a 20 μm con un valor promedio de 3 a 5 μm . Estos glóbulos grasos están constituidos esencialmente por microgotas de triglicéridos, parcialmente cristalizados a temperatura ambiente y envueltos por una membrana conformada por un complejo de proteínas, fosfolípidos, glicoproteínas, lípidos neutros y otros compuestos minerales. Esta estructura permite que actúen como emulsificantes naturales, facilitando que la materia grasa hidrófoba permanezca dispersa en el plasma hidrófilo de la leche. Este fenómeno físico-químico se explica por el hecho que los componentes de la membrana más hidrófobos se encuentran orientados hacia el núcleo del glóbulo graso, en cambio los más hidrófilos están en contacto con el plasma. Los mismos autores, (DANTHINE *et al.*, 2000), proponen un modelo actualizado de estructura de la membrana del glóbulo graso de la leche, para explicar la orientación de los diferentes fosfolípidos, glicoproteínas y el complejo xantina oxydasa-butirofilina, lo que permitiría entender la afinidad y persistencia de residuos de pesticidas presentes en productos lácteos (FIGURA 2).

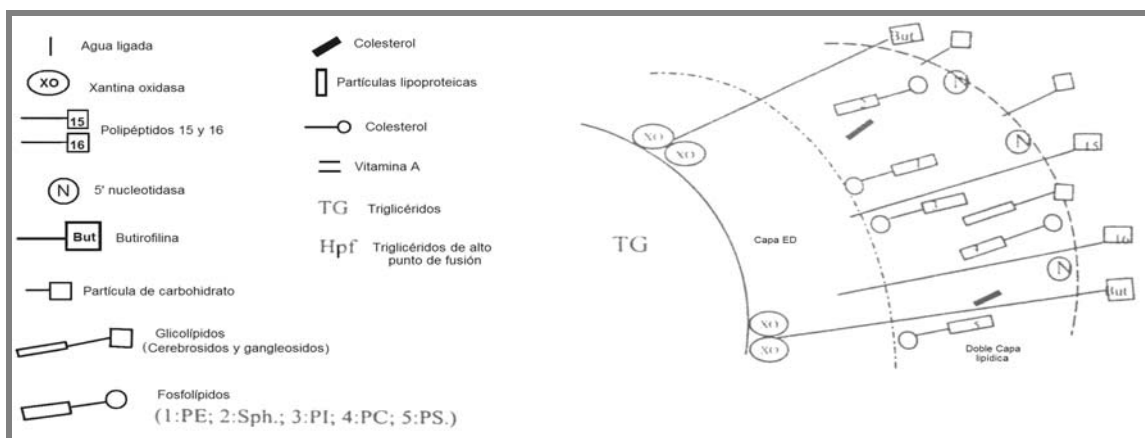


FIGURA 2 Modelo actualizado de la estructura de la membrana del glóbulo graso lácteo, propuesto por DANTHINE *et al.* (2000).

2.7 Características de los plaguicidas organoclorados evaluados en el presente estudio

Se presenta a continuación, la estructura química y principales propiedades de los pesticidas organoclorados considerados en este estudio; ellas establecidas de acuerdo a las especificaciones señaladas por Waring y Walter, citado por CAMPOS (1990), complementada con informaciones reportadas por otros autores.

2.7.1 Aldrín. Sus características físico-químicas son:

- Fórmula: $C_{12}H_8Cl_6$
- Nombre químico: 1,2,3,4,10,10 - Hexacloro -1,4,4a,5,8,8a -hexahidro-exo-1,4,-endo-5,8-dimetanonaftaleno.
- Propiedades: Sólido cristalino, P.M. (peso molecular): 364,93, P.F.(punto de fusión): 104 a 104,5°C; Pv (presión de vapor) 8,6 mPa (20°C). Su solubilidad se estima en 0,027 mg/L agua (20 °C); soluble en acetona, benceno y xileno.
- Modo de acción: Insecticida que actúa por contacto e ingestión; en los organismos vivos el Aldrín es rápidamente epoxidado a Dieldrín.
- Toxicidad: DL₅₀ oral en ratas, 50 mg/kg.
- Aplicación: Control de insectos del suelo en cultivos de cebada, maíz, raps, maravilla y remolacha azucarada.

2.7.2 Dieldrín. Sus características físico-químicas son:

- Fórmula: $C_{12}H_8 O Cl_6$
- Nombre químico: 1,2,3,4,10,10-hexacloro-6,7-epoxi-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahidro-endo-1,4,-exo-5,8-dimetanonaftaleno.

- Propiedades: Sólido con P.M. 380,93, P.F. 175-176°C; P.V. 8,4 mPa (20°C), Su solubilidad es de 0.186 mg/L. agua. Es estable en álcalis, acidez media y exposición a la luz.
- Modo de acción: Insecticida persistente con acción sobre la superficie cutánea y por vía oral, teniendo un amplio espectro de actividad.
- Toxicidad: DL₅₀ oral para ratas 40 mg./kg.
- Aplicación: Insecticida versátil, utilizado en la agricultura e industria. Efectivo en el control de termitas, langostas, pilmes, hormigas, ratones, etc.

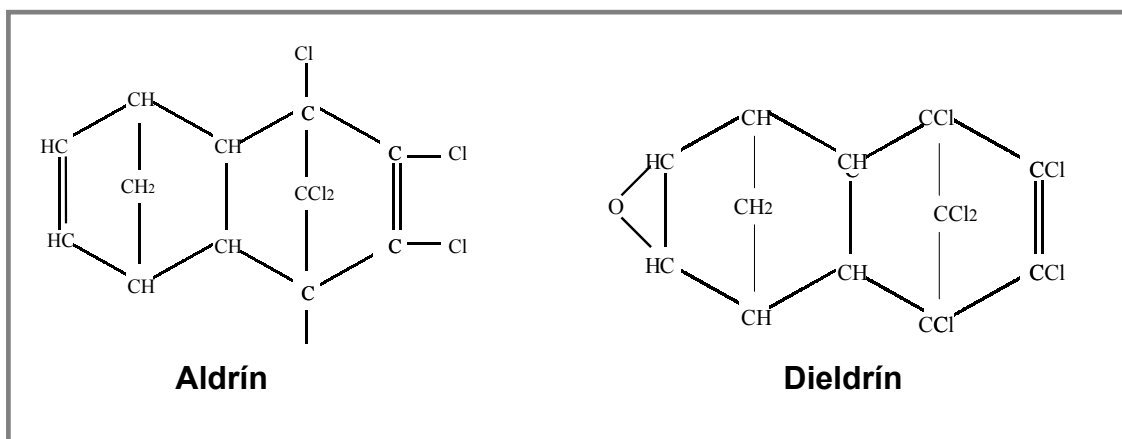


FIGURA 3 Estructura química de Aldrín y Dieldrín.

FUENTE: WORTHING (1979).

Aldrín y Dieldrín, son Ciclodienos clorados. Los insecticidas diénicos se caracterizan por tener al menos un ciclo con un doble enlace y también por ser moléculas policloradas; pueden ser obtenidos mediante “síntesis de Diels -Alder ó “síntesis diénica”. Mientras que el Aldrín, Dieldrín y Endrín son derivados clorados del dimetannaftaleno (dos anillos bencénicos), el Clordano y Heptacloro derivan del metano indeno (CARRASCO y PRIMO, 1980).

Ambos insecticidas, (Aldrín y Dieldrín), están estrechamente relacionados, y se caracterizan por ser persistentes en el medio ambiente; se han usado en la agricultura, mientras que el Dieldrín por otra parte, también se ha empleado en el control de vectores. Tanto en plantas como en animales, Aldrín es completamente convertido a Dieldrín. Luego, al encontrarse presente en suelos o aguas, Dieldrín se degrada lentamente, no es fácilmente evaporable al aire y por lo tanto se une con facilidad a las partículas de la tierra. Las plantas, por otro lado, tienen la capacidad de captar residuos de Aldrín y Dieldrín directamente desde la tierra AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, ATSDR (2002).

En animales, incluido el hombre, Dieldrín se deposita en el tejido graso y es eliminado muy lentamente. Ambos pesticidas, Aldrín y Dieldrín, constituyen las clases de organoclorados más restringidas en el mundo por su alto potencial carcinogénico, estableciéndose su prohibición en Estados Unidos en 1974, (GOODMAN y GILMAN, 1994). En Chile, las prohibiciones para el uso de estos pesticidas datan desde 1987 y 1988 para Dieldrín y Aldrín respectivamente (CHILE, SERVICIO AGRICOLA GANADERO, SAG 1987; 1988).

A partir de 1975, Aldrín y Dieldrín fueron prohibidos en más de 70 países, según señala SOLOMON y WEISS (2002), en una revisión sobre contaminantes químicos ambientales. En el mismo estudio se indica que investigaciones orientadas a medir residuos de Aldrín y Dieldrín en leche humana, y realizadas en al menos 28 países, se encontró que Dieldrín estaba presente en más del 99% de las muestras de leches analizadas en la mayoría de ellos. Por otra parte, debido a que este pesticida es lipofílico y la leche materna contiene una mayor cantidad de lípidos, la concentración de Dieldrín en la leche de mujeres es seis veces más elevada que los niveles medidos en sangre. Desde el momento que estos pesticidas han sido prohibidos, la prevalencia de su detección ha permanecido alta, pero los niveles medidos en leche materna han disminuido significativamente.

2.7.3 Heptacloro. Sus características físico-químicas son:

- Fórmula: $C_{10}H_5Cl_7$
- Nombre químico: 1,4,5,6,7,8,8-heptacloro-3a,4,7,7a-tetrahidro-4,7-endometanoindeno.
- Propiedades: Sólido cristalino, su PF 95-96°C; P.V. 53 mPa (25°C). Su solubilidad es de 0.056 mg/L agua (25-29°C), soluble además en ciclohexanona, etanol, xileno y kerosene. Es estable a la luz, humedad, aire y a temperaturas menores a 261°C.
- Modo de acción: Insecticida persistente con acción dérmica y oral.
- Toxicidad: DL_{50} oral en ratas 90 a 135 mg/kg.
- Aplicación: Utilizado en tratamiento de suelos, semillas, o directamente aplicado al follaje, también puede ser aplicado en el control de insectos en hogares y en el tratamiento de pestes en hombres y animales.

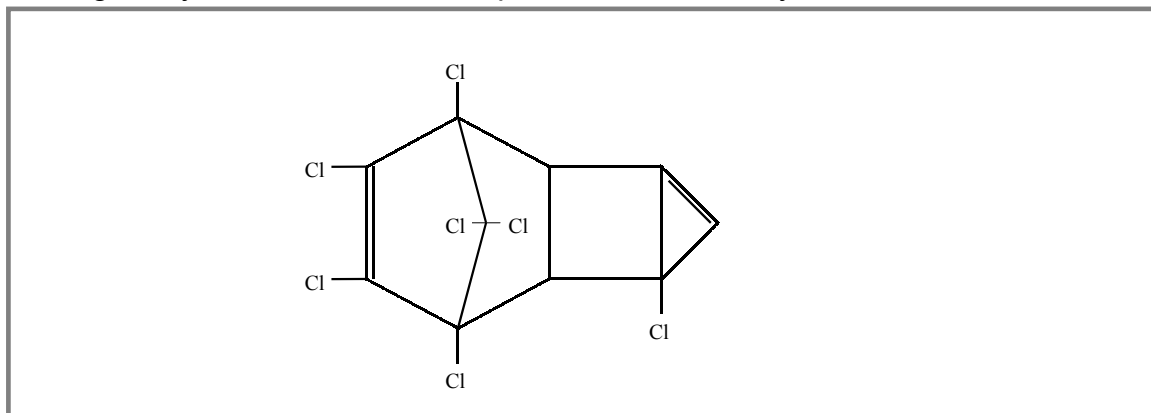


FIGURA 4 Estructura química del Heptacloro.

FUENTE: WORTHING (1979).

Heptacloro, es un insecticida organoclorado ciclodieno, que se ha usado para el control de termitas y como insecticida sobre semillas y productos de cosecha. El Heptacloro técnico contiene normalmente un 70% de Heptacloro y con los peróxidos forma el Heptacloro epóxido, compuesto con mayores propiedades

tóxicas y extremadamente persistente en el suelo (CARRASCO y PRIMO, 1980). En algunos casos se han encontrado trazas de Heptacloro epóxido en tierra 14 a 16 años después de su aplicación, (Extoxnet, citado por SALOMON y WEISS, 2002). Las plantas pueden captar Heptacloro epóxido directamente desde el suelo, y es uno de los compuestos químicos que puede ser bioacumulado en tejidos de animales. Su uso se ha prohibido o restringido en más de 60 países, sin embargo, en algunos de ellos aún es permitido su empleo para el control de termitas y otras plagas; siendo los menos aquellos en los que aún se emplea con fines agrícolas. En Estados Unidos, por ejemplo, se dejó de usar en 1988 (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, ATSDR 1993); en Chile, desde 1987 (CHILE, SERVICIO AGRICOLA GANADERO, SAG 1987).

En estudios realizados por Curie, en Alberta (Canadá), entre 1966 y 1978, citado por SOLOMON y WEISS (2002), los niveles promedios de Heptacloro epóxido en leche materna aumentaron de un promedio de 2ng/g grasa a 29 ng/g grasa. Posteriormente, el uso de este pesticida se discontinuó en Canadá a partir de 1985, por lo que se espera que sus niveles en leche materna comiencen a disminuir.

2.7.4 Lindano. Sus características físico-químicas son:

- Fórmula: $C_6H_6Cl_6$
- Nombre químico: 1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano
- Propiedades: Sólido cristalino, su P.M.: 290,85, P.F. es a los 112°C, su P.V. es de 5,6 mPa (20°C). Su solubilidad es de 7 mg/L de agua, siendo soluble en acetona tolueno, benceno, acetato de etilo, éter etílico. Es estable a < 180°C y a la acción de la luz.
- Modo de acción: Actúa como un insecticida de ingestión y de contacto.

- Toxicidad: En su forma aguda por vía oral la toxicidad es de 125 a 190 mg/kg DL₅₀ en ratas. Por contacto cutáneo el DL₅₀ en ratas es de 500 mg/kg aplicado en solución de 4.000 mg/kg de su forma en polvo.
- Aplicación: Control de insectos del suelo en cultivo de cereales, maíz, frejol, raps, maravilla y hortalizas.

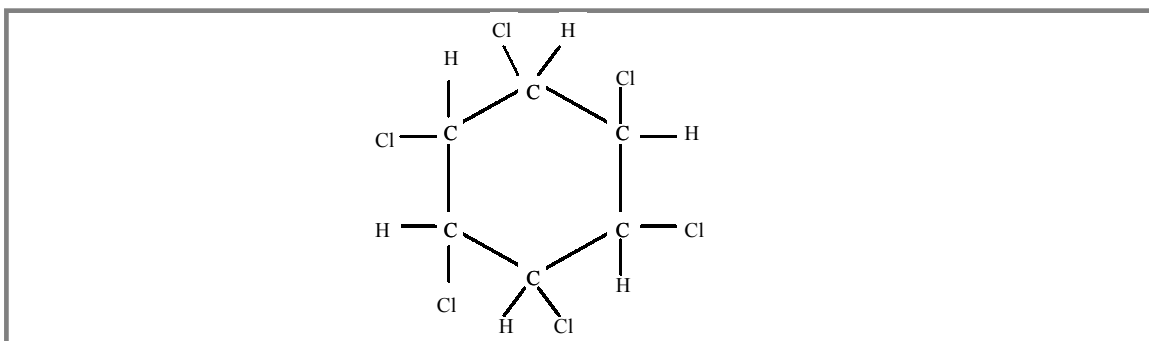


FIGURA 5 Estructura química del Lindano.

FUENTE: VEGA DE KUYPER, (2000).

Lindano, corresponde al γ -isómero de HCH. Es un plaguicida que se obtiene como producto técnico con una pureza del 90 al 99%, y se prepara generalmente para su uso agrícola en formulaciones en polvo o líquidas con un contenido en materia activa del 1 al 10% (CARRASCO y PRIMO, 1980). Este compuesto es ampliamente conocido por ser un insecticida que es directamente aplicado sobre el cuerpo y cuero cabelludo en el tratamiento de sarna y pediculosis (en solución diluida a 1% en humanos y al 10% en animales). Los isómeros α y γ de HCH son convertidos a isómero β en los organismos vivos. Actualmente su uso se encuentra prohibido en la mayor parte de los países, y en otros, está sujeto a serias restricciones debido a su reconocido efecto nocivo, generando compromiso neurológico entre los más importantes. Al igual que para otros pesticidas, la principal acción tóxica de los organoclorados la ejercen sobre el sistema nervioso, interfiriendo con el normal flujo de cationes

de sodio y potasio a través de las membranas de las células nerviosas, aumentando con ello la excitabilidad de las neuronas (PARIS y RÍOS, 2001).

En estudios de RONCO *et al.* (2001b), se reporta que el Lindano es un agente androgénico con efectos mutagénicos; habiéndose demostrado en células de ratas que este pesticida provoca inhibición de la síntesis de esteroides.

2.7.5 ($\alpha+\beta$)-Hexaclorociclohexano. Sus características físico-químicas son:

- Fórmula: $C_6H_6Cl_6$
- Nombre químico: 1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano
- Propiedades: Es un sólido cristalino, con P.M.: 290,85, P.F.: 193-193,5°C, su P.V. es de 8,6 mPa (20°C). La solubilidad es de 2,67 mg./lt de agua (20°C), siendo soluble en acetona, benceno y xileno.

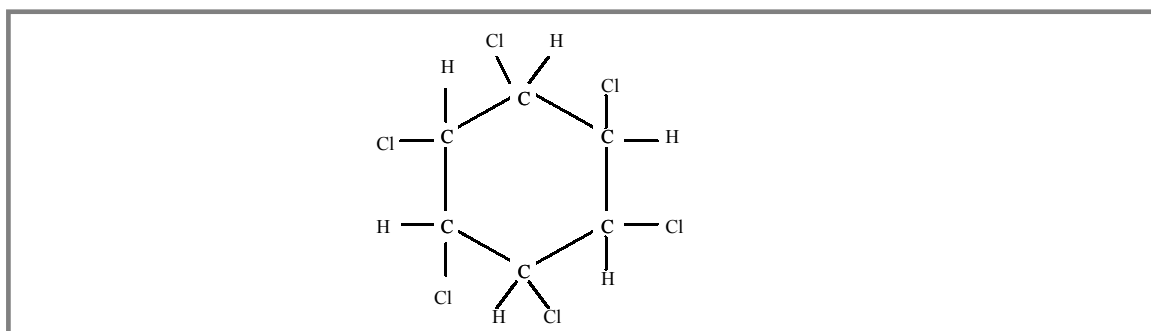


FIGURA 6 Estructura química del Hexaclorociclohexano.

FUENTE: WORTHING (1979).

Hexaclorociclohexano. Es un compuesto con acción insecticida, fue sintetizado por Faraday en 1825 y a partir de 1936 se han aislado varios isómeros, cuyos nombres asignados son, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH y ϵ -HCH. A partir de 1942 se inició su empleo como insecticida, siendo el isómero γ el de mayor actividad como tal (CARRASCO y PRIMO, 1980).

Las distintas formas isoméricas del HCH le confieren diferentes niveles de persistencia y bioacumulación en la leche. El isómero β es la forma más persistente y con mayor capacidad de acumulación debido a la conversión de los isómeros α y γ en isómero β de HCH; es debido a esta condición, que niveles tan altos como el 90% de HCH detectados en tejidos y leche corresponden a esta forma isomérica, Jensen (1991), citado por SOLOMON y WEISS (2002).

Al igual que para el caso del Lindano, el uso de Hexaclorociclohexano se encuentra prohibido en la mayor parte del mundo. En China y Japón, en donde fue comúnmente usado como insecticida, se han encontrado niveles tan altos como 6.500 ng/g de HCH medidos en grasa láctea (SOLOMON y WEISS 2002).

En un estudio realizado en 1982 por Skaare en Noruega (1988), citado por SOLOMON y WEISS (2002), se señala que transcurrida una década después de ser prohibido el uso de β -HCH, se encontraron niveles del orden de 433 ng/g de este pesticida en lípidos plasmáticos de mujeres que habían migrado desde países subdesarrollados; por otra parte, los nativos tenían niveles promedios sólo de 80 ng/g.

Todos los antecedentes, demuestran la variabilidad de persistencia de los distintos pesticidas organoclorados en el tiempo; en el CUADRO 1, se muestra la situación de algunos de ellos.

CUADRO 1 Persistencia de pesticidas organoclorados en el tiempo.

PESTICIDAS	VIDA MEDIA (años)	95% DESAPARICIÓN (años)
Aldrín	0,3	3,5
Heptacloro	0,8	3,5
Clordano	1,0	4,0
Lindano	1,2	6,5
Dieldrín	2,5	8,0
DDT	2,8	10,0

FUENTE: GESCHE (1991).

2.8 Situación de Chile, respecto al uso de plaguicidas

Desde la década del 40, el control de las diversas plagas se ha basado esencialmente en la utilización masiva de los plaguicidas sintéticos, lo cual ha permitido la eliminación de muchas de ellas tanto en el área agrícola como sanitaria. Si bien esto ha reportado beneficios para la población, el uso de estos tóxicos ha provocado importantes problemas de salud, así como también, la contaminación creciente del medio ambiente (CHILE, MINISTERIO DE SALUD 2000).

Los plaguicidas son productos químicos de amplio uso en Chile, están incorporados en actividades de salud pública, en la agricultura y en la agroindustria, entre otros, siendo en el sector agrícola donde estas sustancias presentan una mayor utilización.

De acuerdo a informes entregados por la Autoridad Sanitaria (CHILE, MINISTERIO DE SALUD 2000), tomando como base datos actualizados a 1998, se señala que: “En Chile las importaciones de plaguicidas para su uso agrícola alcanzaron en 1998 a 17.942 toneladas implicando para la última década un aumento de un 48% en el uso de plaguicidas en el territorio”. Luego, el mismo informe agrega, “Si a esto le sumamos la libre venta y circulación de estos productos, el fácil acceso a ellos, la falta de conocimiento y capacitación en su uso y manejo, nos encontramos con una población expuesta a altos niveles de plaguicidas”.

Otro informe señala que el consumo de plaguicidas en Chile aumentó en la última década en 50%, y las importaciones en 1998 tuvieron un costo de US\$ 108.000.000; actualmente hay en uso alrededor de 900 variedades de plaguicidas de diferente composición y toxicidad, lo cual hace que su aplicación y manipulación en forma inadecuada pueda constituir un factor de riesgo para la población y un problema de contaminación ambiental (MARCHETTI, 2001).

2.8.1 Legislación chilena sobre plaguicidas. Debido a que los plaguicidas organoclorados, por las características químicas de sus componentes activos, tienen una alta probabilidad de permanecer en el medio ambiente sobre el cual son aplicados, constituyen un riesgo. Al quedar como residuos en aguas, pastos y otros elementos ambientales, ello puede favorecer su incorporación al organismo humano y animal como contaminantes en alguno de los eslabones de la cadena trófica alimentaria. Por otra parte, siendo conocidos los efectos nocivos para la salud provocados por estos residuos, ha sido necesario establecer normas de regulación respecto a su uso.

En Chile, en 1993 se conformó la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica de Plaguicidas (REVEP), del MINISTERIO DE SALUD, integrada por los Servicios de Salud locales, con el objeto de enfrentar las intoxicaciones agudas por plaguicidas en la población laboralmente expuesta (MARCHETTI, 2001). Previo a ello, el MINISTERIO DE AGRICULTURA ha sido el organismo regulador que ha puesto en práctica las medidas de control respecto a uso de plaguicidas, teniendo como ejecutor de dicha reglamentación al Servicio Agrícola y Ganadero (SAG).

Las Normativas de regulación establecidas y aplicadas en Chile, respecto a la importación, venta, control, restricción y prohibición en el uso de plaguicidas se presenta a continuación:

El Decreto Ley N° 3557, de 1980, del Ministerio de Agricultura, permite al SAG (Servicio Agrícola y Ganadero) regular, restringir, prohibir la fabricación, importación, distribución, venta y aplicación de los plaguicidas, fundándose para ello en razones técnicas (UTRERAS, 1991).

El INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, (CHILE, INN 1979), mediante la Norma Chilena 1525 definió el límite máximo de residuos (LMR) como la concentración máxima del residuo de pesticida autorizado en un

alimento o producto alimenticio como consecuencia del uso de ese pesticida contra plagas que pueden afectar a dicho alimento.

Con fecha 19 de Octubre de 1987, el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), por resolución exenta N° 2.142, publicada en el Diario Oficial de la República de Chile N° 39.902, se prohíbe la importación, fabricación, venta, distribución y uso de los plaguicidas Dieldrín, Endrín, Heptacloro y Clordano (CHILE, SERVICIO AGRÍCOLA GANADERO, 1987).

Mediante resolución exenta del SAG, con fecha 22 de noviembre de 1988, se prohíbe importación, fabricación, venta, distribución y uso del plaguicida Aldrín (CHILE, SERVICIO AGRICOLA GANADERO, 1988).

El MINISTERIO DE SALUD por resolución exenta del 13 de diciembre de 1982, establece los límites máximos de residuos (LMR) en leches y productos lácteos mg/kg. en base grasa (CHILE, MINISTERIO DE SALUD 1983).

El MINISTERIO DE SALUD por resolución exenta N° 581, del 23 febrero de 1999, fijó tolerancias máximas de residuos de plaguicidas, (Límite Máximo de Residuos Extraños: LMRE), en alimentos de consumo interno, entre otros, en leches y productos lácteos en mg/kg. en leche (CHILE, MINISTERIO DE SALUD, 1999). Estos datos, complementados con otros antecedentes se presentan en el CUADRO 2.

CUADRO 2 Límites máximos de residuos de pesticidas organoclorados permitidos en leche y productos lácteos e índice diario admisible, (LMP) e (IDA) respectivamente.

PESTICIDAS ORGANOCOLORADOS	LMP (mg./kg de leche)	IDA (mg/kg de peso corporal)
Aldrín y Dieldrín	0,006	0,0001
Heptacloro y Heptacloro epóxido	0,006	0,0001
Lindano	0,010	0,008
(α + β)-HCH	0,003*	n.e.**
DDT y metabolitos	0,02**	0,02
Clordano	0,002	0,0005

FUENTE: CHILE, MINISTERIO DE SALUD (1999).

* Legislación alemana, (HEESCHEN y BLUTHGEN, 1979), (modificado).

** Codex Alimentarius , FAO, (1992).

*** N.E.: No especificado en normas chilenas.

3. MATERIAL Y MÉTODO

El estudio se realizó en los Laboratorios del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL) y de Fitoquímica, ambos pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile, Valdivia.

3.1 Muestreo

Para la toma de muestras se seleccionaron dos plantas lecheras de las Regiones IX y X de Chile, las que por volumen de recepción, son las más representativas de dichas zonas geográficas.

Se realizó un muestreo mensual de 1 litro de leche entera UHT durante un año, desde junio del año 2003 hasta el mes de mayo del 2004. Todas las muestras se obtuvieron en condiciones similares a las de venta al público, en supermercados del Mercado Nacional.

Las muestras fueron tomadas conforme a las Normas establecidas por la INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF/FIL 50C:1995), y transportadas al Laboratorio del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Universidad Austral de Chile, en donde se almacenaron en sus respectivos envases de origen y a temperatura ambiental, y procediendo a extraer la materia grasa de inmediato.

3.2 Tratamiento de las muestras

La extracción de materia grasa láctea se realizó según el método recomendado por FRANK *et al.* (1975); la extracción y purificación de pesticidas organoclorados, se realizó según la metodología recomendada por la INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, IDF/FIL 75C:1991 Método G

(Steinwandter), y su posterior análisis, por GLC (Cromatografía de Gases), para la identificación y cuantificación de los pesticidas presentes en las muestras.

3.3 Diseño experimental

Se usó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de 2 x 4 con 2 repeticiones. Como fuente de variación se consideró el efecto Región (2 Regiones), y efecto estacional (4 estaciones). Se realizó el análisis de varianza de Fisher de una vía, con un 5% de nivel de significancia y prueba de Tukey cuando fue necesario. Se usó el paquete estadístico SPSS 12.

3.4 Reactivos, materiales y equipos

3.4.1 Reactivos. Los reactivos empleados son los más apropiados para realizar análisis cromatográfico y correspondió a los siguientes:

- | | |
|---|-------------------|
| a) Éter de petróleo (Bencina de petróleo) | Merck 1.01775 |
| b) Diclorometano | Merck 1.06050 |
| c) Solvente de elusión,
éter de petróleo + diclorometano 4+1 (v+v) | |
| d) Sílica gel | Merck 1.07734 |
| e) Agua destilada | |
| f) Isoctano | Merck 1.04371 |
| g) Acetona | Equilab UN.1090 |
| h) Tritón-X | Merck 1.08603 |
| i) Hexametafosfato de Sodio | Sigma P-8510 |
| j) Lana de vidrio | Supelco 20409 |
| k) Detergente neutro | Merck 1075555.000 |

3.4.2 Materiales de vidrio y otros. Los materiales utilizados en la presente investigación fueron los siguientes:

- a) Columnas cromatográficas de 50 mL (10 x 300 mm) provistas de un reservorio en su parte superior.
- b) Vasos de precipitado de 250 mL
- c) Pipetas parciales (10mL) y totales (5mL).
- d) Probetas de 250 mL
- e) Tubos de vidrio con tapa de cierre hermético
- f) Tubos de centrifugación
- g) Matraces de fondo redondo de 50 mL
- h) Matraces aforados de 1 litro
- i) Embudos de vidrio
- j) Cápsulas de porcelana
- k) Matraces aforados de 10 mL
- l) Viales de vidrio
- m) Desecador

3.4.3 Equipos. Los equipos empleados fueron los siguientes:

- a) Balanza analítica Sartorius A 200 SB 8010021,
sensibilidad 0.0001 gr.
- b) Rotavapor y accesorios Laborota 4002-digital, Heidolph. Bomba
de vacío VACUBRAND: tipo ME 2C.
Rango: 50-60 hz.
- c) Mufla (450°C) Termolyne 48000, modelo F 78020-2b.

d) Centrífuga

Gerber 800 rpm.

3.5 Análisis

3.5.1 Extracción de grasa láctea según FRANK *et al.* (1975). A continuación se describe el procedimiento utilizado.

3.5.1.1 Principio del método. Extracción de grasa láctea a partir de leche fluida. Obtención de la grasa láctea mezclando una cantidad medida volumétricamente de leche con igual volumen de detergente Tritón X-100. Separación de la fase lipídica a baño de agua (95°C) y centrifugación a 1200 rpm.

3.5.1.2 Procedimiento. Para este fin se siguieron las siguientes etapas:

A. Lavado de material de vidrio. El lavado de materiales se realizó de la siguiente manera:

- a) Lavado con solución detergente (3.4.1.k), enjuague con agua corriente y secado de material.
- b) Tratamiento con mezcla sulfocrómica por 24 horas, lavado con agua destilada y secado.
- c) Tratamiento del material con acetona (3.4.1.g) antes de usar (cebado).
- d) Protección de las partes expuestas del material con papel de aluminio para evitar contaminación.
- e) Almacenamiento del material hasta su utilización.

B. Extracción de grasa láctea. Los pasos a seguir para obtener la grasa láctea fueron los siguientes:

- a) Preparación de una solución detergente, 70 gr. de Hexametáfosfato de Sodio, se mezclan con 30 gr. de Tritón-X-100, disolviéndose en agua destilada, con calentamiento hasta su disolución y diluir a 1 litro.
- b) Mezclar una alícuota de leche con igual volumen de solución detergente-Tritón X-100.
- c) Calentar en baño de agua a 95°C, agitar la muestra a fin de obtener una mayor separación de la fase lipídica.
- d) Extracción de la fase lipídica con pipeta Pasteur y luego pasar a un tubo de centrifugación.
- e) Centrifugar la fase lipídica a 1200 r.p.m. por 10 minutos.
- f) En embudo de vidrio con papel Whatmann de filtración rápida y en presencia de sulfato de sodio anhidro (punta de espátula), filtrar la fase lipídica en estufa a 50°C.
- g) Mantener la muestra de grasa anhidra en tubo de vidrio provisto de tapa con cierre hermético a temperatura de -20°C hasta el momento de la extracción de plaguicidas.

3.5.2 Extracción de residuos de pesticidas en grasa láctea según IDF/FIL 75C:1991 método G (Steinwandter). En la aplicación de este método para la extracción de residuos de pesticidas en grasa láctea, se consideraron los siguientes pasos:

3.5.2.1 Principio del método. 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) y concentración del eluato para su análisis por GLC.

3.5.2.2 Sílica gel, activación y desactivación. Para activar la sílica gel, se colocaron sobre una cápsula de porcelana aproximadamente 50 gr de sílica gel

y se calentó en horno a 450°C durante 3 horas, luego se dejó enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se almacenó en envase hermético. Para su desactivación, se mezclaron en un envase de boca ancha, 90 partes de sílica gel activada con 10 partes de agua destilada. Se agitó la mezcla durante 20 minutos y se almacenó en envase hermético por 10 a 12 horas para de esta forma asegurar una distribución uniforme del agua.

Es de importancia señalar, que la sílica gel luego de preparada debe ser utilizada en un plazo no mayor a tres días.

3.5.2.3 Extracción de plaguicidas. Para la extracción de pesticidas se procedió a:

- a) Pesar $0,25 \pm 0,005$ gr de una muestra de grasa láctea y disolver en aproximadamente 5,0 mL. de éter de petróleo bajo agitación, para luego aforar en matraz de 10 mL. Repetir el procedimiento.
- b) Acondicionar una columna cromatográfica (10 x 300 mm con envase superior a 50 mL.), previamente lavada, y colocar una porción de lana de vidrio (3.5.1.2A) en su base (tapón).
- c) Luego del lavado de la columna con éter de petróleo, agregar 4,5 gramos de sílica gel desactivada (4.3.3.3.), en forma lenta y mediante vibración.
- d) Transferir a la columna 5,0 mL. de la muestra diluída (3.5.3.3 a) en forma cuantitativa.
- e) Eluir 40 mL del solvente de elusión (3.4.1 c). Recibir del Rotavapor eluato en matraz de 50 mL.
- f) Concentrar el eluato, hasta obtener casi su sequedad, bajo presión reducida en Rotavapor a 40°C.

- g) Agregar 1 mL de Iso-octano (3.4.1.f.) a los matraces redondos utilizados en el Rotavapor para redissolver los plaguicidas y posteriormente transferirlos a un vial de vidrio.
- h) Guardar los viales bajo refrigeración hasta el inicio de los análisis cromatográficos.

3.5.3 Análisis cromatográfico en GLC-ECD. A continuación se presentan el principio del método, la descripción del equipo y características de la solución estándar utilizada.

3.5.3.1 Principio del método. Identificación y cuantificación de residuos de pesticidas organoclorados a partir de un extracto de grasa láctea de leche UHT por medio de detectores de captura de electrones.

Para la realización de este análisis se emplearon los siguientes equipos y reactivos.

3.5.3.2 Equipo cromatográfico. Se usó un equipo cromatográfico de gases VARIAN, modelo CP 3800, equipado con detector de captura de electrones (^{63}Ni) y columna capilar de vidrio DB-608 con una longitud de 30 metros, de diámetro interno 0,53 mm y espesor del film de 0,83 micrómetros.

Sistema de Control Varian Chromatography Workstation, Star System Control, Versión 5.31.

3.5.3.3 Solución estándar. Como estándar se utilizó una mezcla de un microlitro de pesticidas organoclorados, Supelco 46845-U. (SIGMA. St. Louis, MO 63178.USA). La concentración de cada uno de los pesticidas expresado en $\mu\text{g/mL}$. fue la siguiente: α -BHC (200), Lindano (200.1), Heptacloro (200), gama-BHC (200.1), Aldrín (200), Heptacloro epóxido (200.1), Endosulfán (199.9), 4.4'DDE (200), Dieldrín (200,1), Endrín (200), Endosulfán I (200.1), 4.4'- DDT (200), Endrín aldehído (199.9), Endosulfán sulfato (199.9).

El estándar se diluyó hasta obtener concentraciones de: 2; 4; 6; y 8 $\mu\text{g/mL}$.

3.5.3.4 Condiciones operacionales del cromatógrafo. Las condiciones operacionales son las que se indican a continuación:

- Gas de arrastre Nitrógeno 99,995% pureza
- Gas complementario Nitrógeno 99,995% pureza
- Temperatura de inyector 200°C
- Temperatura de detector 310°C
- Temperatura inicial de horno 180°C x 4 min
- Gradiente de temperatura 6°C/min.,
hasta alcanzar 260°C.
- Flujo gas de arrastre 0,8 mL/min
- Tiempo total de corrida: 30 mL/min.
- Volumen de inyección 2 µL

3.5.3.5 Expresión de resultados. El contenido de residuos de pesticidas para las muestras de leche UHT (grasa láctea anhidra) se expresó en µg/mL base leche, utilizando la siguiente expresión de estándar externo, la cual fue incorporada en el equipo GLC.

$$Ci \text{ (ppb. base leche)} = \frac{1}{p} \times \left(\frac{A_m}{A_s} \right) \times C_s \times V_e \times \left(\frac{V_s}{V_m} \right) \times k$$

Donde:

p = Peso en gramos de la muestra grasa láctea anhidra

A_m = Área del pesticida "i" en estudio en el eluato concentrado

A_s = Área del pesticida "i" en el estándar

C_s = Concentración en ppm del pesticida "i" en el estándar.

V_e = Volumen en μL del extracto final

V_s = Volumen en μL de la solución estándar del pesticida "i" inyectado.

V_m = Volumen en μL de la muestra inyectada.

k = Factor de conversión base grasa a base leche

3.5.3.6 Ejemplo de cálculo. Para ejemplificar el proceso de cálculo se consideró la muestra 1-3-1 (ANEXO 1) para el pesticida Lindano.

$C_s = 4$ ppb.

$A_s = 241,049$

$A_m = 75,5669$

$$C_i (\text{ppb. base grasa}) = \frac{1}{0,125 \text{ gr.}} \times \left(\frac{75,569}{241,049} \right) \times 4 \text{ ppb} \times 1 \text{ mL} \times \left(\frac{2 \mu\text{L}}{2 \mu\text{L}} \right) \times 0,03$$

$$C_i (\text{ppb. base leche}) = \frac{0,30096}{1000}$$

$$C_i (\text{ppm. base leche}) = 0,00030096$$

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Consideraciones generales

Para efectos de la presentación de resultados se estructuraron CUADROS y diseñaron FIGURAS, a fin de facilitar el análisis de las distintas variables estudiadas. Los valores de los niveles de pesticidas organoclorados, se agruparon de acuerdo a las familias de los distintos pesticidas, calculando los promedios (\bar{x}), para cada uno de los grupos y explicitando los respectivos valores máximos encontrados; todos ellos expresados en mg/kg leche. Las plantillas, a partir de las cuales se extrajeron los datos para su procesamiento matemático, computacional y los análisis estadísticos se presentan como ANEXOS.

Se indica la incidencia porcentual de los pesticidas detectados en forma aislada para cada uno de ellos, o agrupados por el pesticida y sus derivados, como es el caso de Heptacloro, el que se analizó sumando los valores de éste al de su respectivo epóxido; se empleó una metódica similar para el caso de Aldrín y Dieldrín.

En la presente investigación, se consideró como Límite Máximo Permitido (LMP), conocido también como Límite Máximo Residual (LMR), para los pesticidas estudiados, a aquellos valores estipulados en la resolución exenta N° 581 del MINISTERIO DE SALUD (CHILE, 1999). Para el caso particular de los isómeros α y β HCH, debido a que las normativas nacionales no establecen los valores de LMR, se consideró a aquellos que estipula la norma de la República Federal Alemana HEESCHEN y BLUTHGEN (1979), correspondiendo éstos a 0,003 ppm.

Para cada uno de los pesticidas estudiados se consideró la razón \bar{x} /LMR, debido a que ella permite dar una visión más clara y objetiva al momento de analizar los propios resultados, correlacionar éstos con aquellos valores establecidos en las normas vigentes y a su vez, ser comparados con los resultados de otros autores.

4.2 Resultados

4.2.1 Niveles de pesticidas organoclorados encontrados en muestras de leche UHT. El valor promedio (\bar{x}) de los residuos de pesticidas organoclorados (p.o.) expresados en mg/kg leche, el porcentaje de muestras positivas a la presencia de residuos (> a no detectable), así como también los pesticidas que sobrepasaron los límites máximos permitidos (LMP) y la razón \bar{x} /LMP se presentan en el CUADRO 3.

CUADRO 3 Niveles de pesticidas organoclorados en muestras de leche UHT procedentes de la IX y X Regiones de Chile en el período junio 2003 - mayo 2004 (n=48).

PESTICIDAS ORGANOCOLORADOS (P.O)	LÍMITES DE TOLERANCIA (mg/kg leche) (LMP) ¹ x10 ⁻³	% MUESTRAS POSITIVAS (> N.D.) ²	% MUESTRAS > LMP	VALOR PROMEDIO (x) Y MÁXIMO ENCONTRADO (mg/Kg leche)x10 ⁻³		RAZÓN \bar{x} / LMP
(alfa+beta)-HCH	3*	29	6,25	0,859044	7,87056	0,2863
Gamma-HCH	10	27	0	0,049305	0,30096	0,0049
Heptacloro + epóxido	6	100	0	0,188528	0,3192	0,0314
Aldrín + Dieldrín	6	29	0	0,017413	0,27552	0,0029

¹ Ministerio de Salud Resol. N° 581 exenta del 23 de febrero de 1999 (CHILE, 1999).

² N.D.: no detectable.

* República Federal de Alemania. Límite Oficial L.M.P.: 0,003 mg/kg. leche. (HEESCHEN y BLUTHGEN, 1979), (modificado).

En el CUADRO 3, se puede apreciar que en el 100% de las muestras de leche analizadas estuvo presente algún residuo de pesticida organoclorado en forma aislada o como familia de p.o. El orden de incidencia de estos pesticidas en las

muestras de leche fue el siguiente: Heptacloro y su epóxido (100%), Aldrín+Dieldrín (29%), ($\alpha+\beta$)-HCH (29%) y Lindano (27%). Por otra parte, el porcentaje de muestras que sobrepasaron los niveles máximos permitidos fue de 6,25%, correspondiendo en todos los casos a los pesticidas (alfa+beta)-HCH.

Al analizar la relación \bar{x} /LMP, considerando el promedio de valores obtenidos para cada uno de los grupos de pesticidas respecto al total de las muestras, se puede apreciar que para ninguno de los pesticidas estudiados ésta fue mayor a la unidad, siendo el valor más alto 0,2863, correspondiendo éste a los pesticidas (alfa+beta)-HCH.

En el CUADRO 4, se muestran en forma separada los resultados para las Regiones Novena y Décima. Se puede apreciar que los valores máximos de la relación \bar{x} /LMP correspondieron a los mismos pesticidas, (alfa+beta)-HCH), con niveles de 0,23074 y 0,34195 para las Regiones Novena y Décima respectivamente, y los más bajos a los pesticidas Aldrín+Dieldrín, con valores de 0,00373 y 0,00207 en el mismo orden para cada una de las Regiones.

CUADRO 4 Valores promedios de niveles de pesticidas organoclorados y la razón \bar{x} /LMP en muestras de leche UHT de la Novena (n=24) y Décima Regiones (n=24).

Pesticidas Organoclorados	Límite tolerancia (ppm.)x10 ⁻³	IX Región		X Región	
		Valor promedio (mg/kg. leche) x10 ⁻³	\bar{x} /LMP ¹	Valor promedio (mg/kg. leche) x10 ⁻³	\bar{x} /LMP ¹
(alfa+beta)-HCH	3*	0,692222	0,23074067	1,025865	0,341955
Gamma-HCH	10	0,05883	0,005883	0,03978	0,003978
Heptacloro + epóxido	6	0,19006	0,03167667	0,186995	0,03116583
Aldrín + Dieldrín	6	0,02239	0,00373167	0,012435	0,0020725

¹ Ministerio de Salud Resol. N° 581 exenta del 23 de febrero de 1999 (CHILE, 1999).

* República Federal de Alemania. Límite oficial: 1979, LMR: 0,003 mg/kg. leche, (HEESCHEN y BLUTHGEN, 1979), (modificado).

En la FIGURA 7 se muestra un gráfico con las concentraciones de pesticidas organoclorados medidos en leche, comparando los resultados obtenidos en la Novena y Décima Regiones.

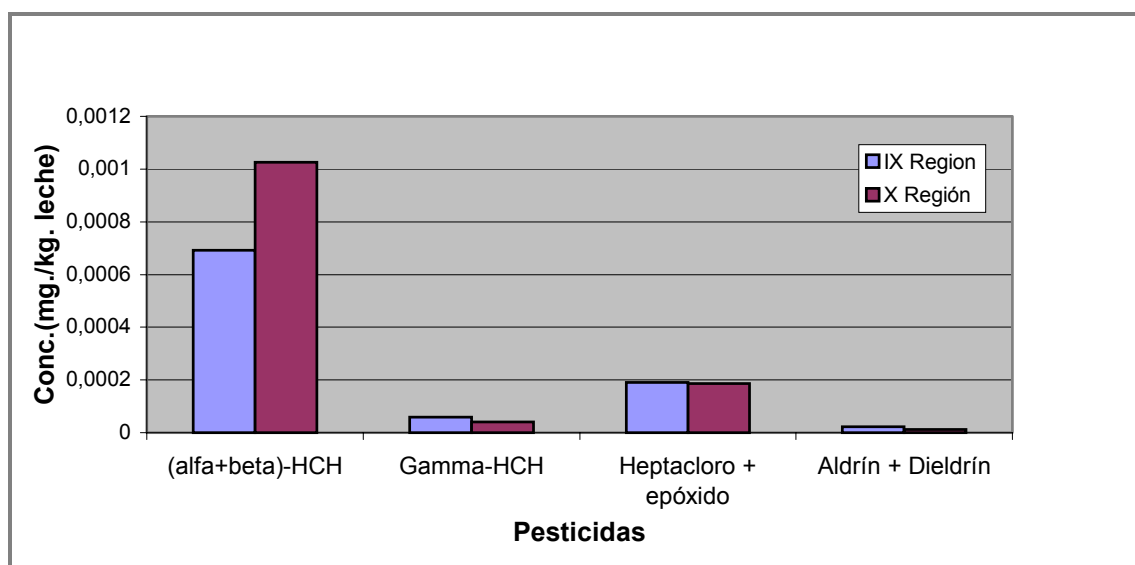


FIGURA 7 Niveles de residuos de pesticidas organoclorados medidos en muestras de leche UHT comparando las Regiones IX y X.

Realizados los análisis estadísticos, mediante análisis de varianza (ANDEVA) con una significancia de $P > 0,05$ (ANEXOS 2,3,4,5), se encontró que no hubo diferencias significativas al correlacionar los niveles de los distintos grupos de pesticidas medidos en las muestras de leche procedentes de la Novena y Décima Regiones.

Al comparar la distribución estacional de los niveles de pesticidas, se encontró que (alfa+beta)-HCH estuvo presente con niveles más altos en las estaciones de invierno y primavera, situación que se repitió tanto en la Novena como Décima Regiones. De la comparación de los niveles de (alfa+beta)-HCH entre las Regiones, se desprende que estos valores fueron más elevados en la décima durante la primavera y similares durante el invierno (FIGURAS 8 y 9).

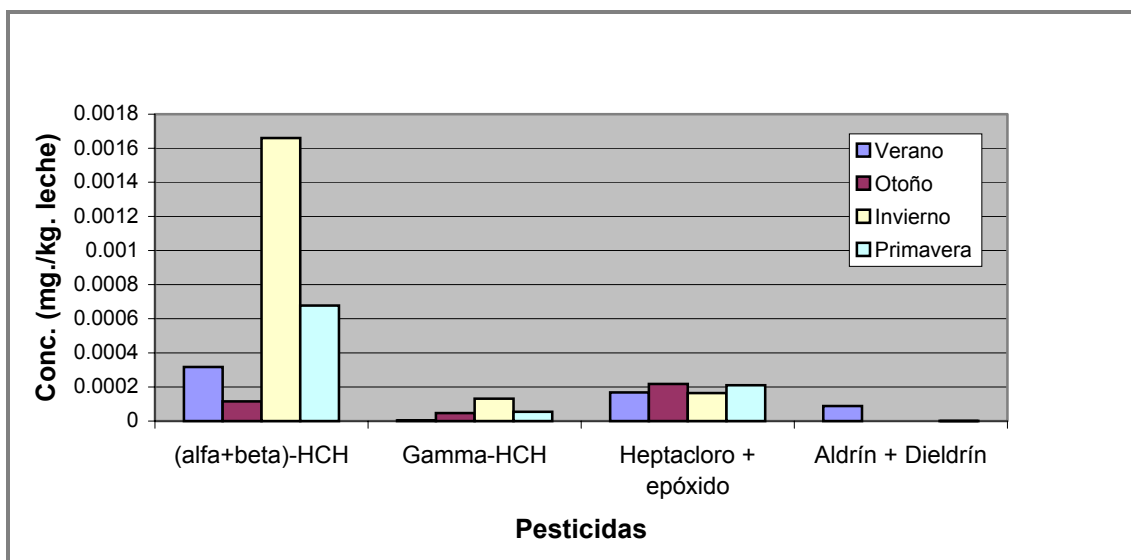


FIGURA 8 Distribución estacional de niveles de pesticidas organoclorados en muestras de leche UHT, procedentes de la Novena Región durante el período junio 2003 - mayo 2004.

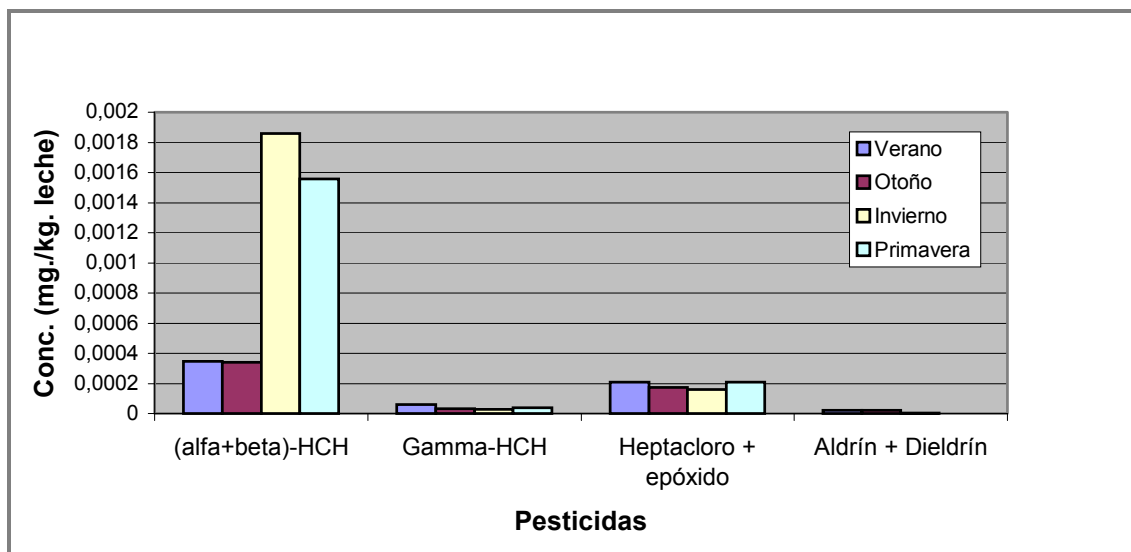


FIGURA 9 Distribución estacional de niveles de pesticidas organoclorados en muestras de leche UHT, procedentes de la Décima Región durante el período junio 2003 - mayo 2004.

Sin embargo, al realizar el análisis estadístico se encontró que no hubo diferencias significativas a nivel estacional ($P > 0,05$) para ninguno de los pesticidas, (ANEXOS 2, 3, 4, 5).

4.3 Discusión

Los resultados del presente estudio, revelaron la presencia de al menos una familia de pesticidas organoclorados (Heptacloro + epóxido) en el 100% de las muestras de leche analizadas. Si se toma en consideración, lo establecido en la legislación vigente respecto a su prohibición, y por otra parte, al hecho que la vida media para el Heptacloro se ha estimado en 0,8 años, con el 95% de su desaparición en 3,5 años, (GESCHE, 1991), se puede deducir que su presencia en leche UHT confirma la existencia de contaminantes ambientales, los que en la forma de residuos de pesticidas están presentes en leches disponibles para el consumo.

Por otra parte, la presencia de los pesticidas (alfa+beta)-HCH, Aldrín+Dieldrín y Lindano en casi un tercio de las muestras analizadas, apuntarían en el mismo sentido, puesto que a partir de 1988 el uso de la totalidad de estos pesticidas fue prohibida en Chile, (CHILE, SERVICIO AGRÍCOLA GANADERO 1988).

El último inventario nacional sobre existencias de plaguicidas caducados, Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs) realizado en Chile, se llevó a cabo en el año 2004 (CHILE, SERVICIO AGRÍCOLA GANADERO, SAG 2004). En dicho estudio se señala, que a la fecha en todo el país existen 528,5 kilos de COPs, de los cuales 86,5 kilos se encuentran en la Décima Región y cero kilos en la Novena. Se destaca la existencia de las siguientes cantidades de COPs en la X Región: DDT (76,5 kg), Aldrín (5,0kg) y Hexaclorobenceno (5,0 kg). El problema planteado, es cómo disponer la eliminación de estos COPs, sin que ellos a su vez representen potenciales efectos de contaminación que pongan en riesgo la salud humana, animal y el medio ambiente en general. Al respecto, cabe destacar que al aplicar pesticidas sobre un terreno agrícola, la

permanencia de éste en el suelo va a depender, entre otros factores, de la adsorción. Como tal, se entiende a aquel fenómeno físico o químico por el cual las partículas de un fluido quedan retenidas sobre una superficie sólida (BADUI, 1996). La adsorción está regida por factores propios del insecticida y por las condiciones del suelo, entre las que destaca la naturaleza del complejo adsorbente y el pH. Respecto al suelo, tiene importancia el contenido en materia orgánica junto con la concentración y naturaleza de la arcilla; y en cuanto al insecticida, juega un rol importante el tamaño de la molécula y su polaridad, de tal manera que cuando la adsorción es muy intensa, el pesticida puede permanecer en el suelo durante tiempo prolongado.

Como se ha señalado, en el presente estudio se demostró la presencia de Heptacloro+epóxido en el 100% de las muestras de leche analizadas; si se comparan dichos resultados con los publicados por PINTO *et al.* (1990 b), en un estudio realizado en leche pasteurizada procedente de la provincia de Valdivia, se puede observar que en dicha investigación este pesticida se encontró en el 62,5% de las muestras, y para otros pesticidas, Aldrín+Dieldrín, Lindano y (alfa+beta)-HCH, hubo una positividad del 75,0%.

Al realizar un análisis comparativo y evolutivo en el tiempo, respecto al comportamiento de los niveles de p.o. en leche pasteurizada, tomando como referencia estudios realizados por PINTO *et al.* (1990 b) y aquellos del presente estudio en leche UHT, se puede apreciar que: los niveles expresados en mg/kg leche para los pesticidas Aldrín+Dieldrín, Gamma-HCH, Heptacloro+epóxido y ($\alpha+\beta$)-HCH en la IX Región fueron de 11,7; 0,1; 5,1 y $10,9 \times 10^{-3}$, versus 0,02; 0,05; 0,19 y $0,69 \times 10^{-3}$ en el mismo orden. Por otra parte, para la X Región estos niveles correspondieron a 11,7; 7,5; 5,3 y $11,9 \times 10^{-3}$ versus 0,01; 0,03; 0,18 y $1,02 \times 10^{-3}$ en la misma secuencia.

Estos resultados están revelando, que no obstante haber transcurrido 15 años desde la prohibición del uso de pesticidas organoclorados en Chile, su presencia se mantiene con una alta incidencia en leche de vaca, siendo incluso

más elevada para el caso de Heptacloro+epóxido, tal como lo demuestra el presente estudio. Sin embargo, los niveles han disminuido drásticamente, a tal punto que para todos ellos, salvo para el 6,25% de muestras positivas para (alfa+beta)-HCH, éstos estuvieron por debajo de los límites máximos permitidos por la actual legislación, (CHILE, MINISTERIO DE SALUD 1999). Esta nueva legislación, establece límites que son 15 veces más exigentes que los establecidos en 1988 para Aldrín, Dieldrín y Heptacloro, y 20 veces más para el Lindano.

Si se comparan estos resultados con aquellos publicados por PRADO *et al.* en 1998, al medir niveles de p.o. en leche pasteurizada comercializada en la ciudad de México, se puede señalar que el presente estudio mostró niveles inferiores, los que comparativamente representan el 0,22; 2,3; 4,1 y 13,0% respecto a lo encontrado por dichos autores para Aldrín+Dieldrín, Gamma-HCH, Heptacloro+epóxido y ($\alpha+\beta$)-HCH respectivamente. Aún cuando estos estudios corresponden a realidades geográficas y climáticas distintas, de alguna manera estaría indicando que las normas reguladoras respecto al uso de p.o. en Chile serían más oportunas y eficaces.

En el mismo sentido apuntan estudios realizados en otras latitudes, como es el caso del sur de Canadá (FRANK *et al.*, 1975), en donde se logró bajar los niveles de DDT en leches desde 0,20 ppm en 1967 a 0,05 ppm en 1973, con resultados parecidos para el Dieldrín, y siendo más notorios los resultados obtenidos para Lindano y Heptacloro epóxido, en cuyos casos los niveles llegaron a ser prácticamente no detectables. De igual manera, estudios realizados en leche humana en distintos países (SOLOMON y WEISS, 2002) indican que desde que se prohibió el uso de pesticidas, tales como Aldrín y Dieldrín en la práctica agrícola, aún cuando los índices de detección se han mantenido altos, los niveles de sus residuos en leche han bajado significativamente.

Otro aspecto importante a analizar, tiene relación con la ingesta diaria admisible (IDA). Para objetivar dicho análisis, se ejemplifica a través de la ingesta diaria promedio de 750 cc de leche para un niño de 12 meses de edad, con un peso promedio de 10 kg., correspondiente al percentil 50 de las tablas de crecimiento y desarrollo usadas en Chile (BARRERA, 2004). Se puede concluir, que respecto a la ingesta de residuos de Lindano, este niño estaría recibiendo alrededor de 0,0000369 mg diario de p.o. (referido a los niveles medidos en el presente estudio, CUADRO 3). Esta cantidad, resulta estar muy por debajo de los niveles aceptados como IDA (0,08mg día, referido a un peso de 10 kg). Estos resultados están indicando que no existe riesgo de intoxicación aguda; sin embargo, el consumidor no está ajeno a los potenciales efectos acumulativos a largo plazo. Una situación similar se encontró para los otros pesticidas, cuando se hizo el análisis teniendo como referencia los resultados obtenidos en el presente estudio.

Varios autores han destacado la propiedad de bioacumulación que tiene la mayor parte de los residuos de p.o., y particularmente su capacidad para depositarse en el tejido graso. Este último aspecto, adquiere una significativa importancia epidemiológica en aquellas circunstancias en las que se produce intoxicación aguda. Está descrito, que al producirse movilización de los depósitos de grasa en los animales, a causa de cualquier enfermedad que les provoque adelgazamiento, se condicionaría el paso de los pesticidas acumulados hacia el torrente sanguíneo, generando de esta forma, incrementos de los niveles de residuos de pesticidas en la leche(GESCHE, 1991).

Está ampliamente documentado en la literatura científica, el hecho que los compuestos orgánicos que persisten en el medio ambiente, por su tendencia a acumularse en la grasa de animales y seres humanos, pueden llegar a ser altamente tóxicos a concentraciones incluso muy bajas (IFCS, 2003).

Los dos aspectos comentados podrían explicar, en gran medida, el grado de vulnerabilidad que los seres vivos tienen frente a la exposición a sustancias tóxicas. En la especie humana, los niños en particular, reaccionan en forma diferente a la acción de los productos químicos comparados con los adultos. Dicha situación está condicionada por factores que hacen que la diferenciación de los tejidos y órganos, la organización y desarrollo celular en el feto y el niño sean períodos de altísima vulnerabilidad, durante los cuales la exposición a tóxicos químicos pueden interrumpir el desarrollo normal y llegar a causar daño permanente (INTERGOVERNMENTAL FORUM ON CHEMICAL SAFETY, IFCS 2003). En este sentido, adquieren importancia algunos estudios como los realizados en la Sexta Región de Chile por ROJAS *et al.* (2000), quienes demostraron la existencia de una elevada prevalencia de malformaciones congénitas (41,24‰), aparentemente ellas relacionadas con la exposición a pesticidas.

La ingesta de leche de vaca por parte de los niños, las embarazadas y mujeres que amamantan, es un hábito permanentemente incentivado por las autoridades sanitarias de todo el mundo. En el caso particular de Chile, se ha garantizado la entrega de Leche Purita fortificada a las embarazadas y niños menores de 18 meses de edad (CHILE, MINISTERIO DE SALUD 1998). Esta situación requiere de la administración de parte del Estado, de un alimento seguro y exento de sustancias extrañas; debiendo las madres que amamantan, por otra parte, asegurar la administración de leche materna en las mejores condiciones a su hijo, puesto que ésta representa el 100% de la fuente nutricional del niño en los primeros meses de vida.

En estudios realizados por Olszyna-Marzys, citados por TRIVIÑO (1982), se señala que la mujer elimina a través de la leche aproximadamente el 12,5% de los residuos de pesticidas organoclorados ingeridos, a diferencia de ello la vaca elimina sólo el 1,5%; este contenido de residuos, 50 a 100 veces más alto en la leche humana, representa un riesgo potencial más elevado para el niño, por sus

características fisiológicas antes comentadas. Este riesgo, por otra parte, se encuentra incrementado en mayor grado cuando la madre o el niño reciben leche con contaminantes ambientales, particularmente residuos de p.o.

A este respecto, estudios realizados en la Novena y Décima Regiones de Chile, determinando niveles de residuos de p.o. en leche humana en base a grasa láctea, han sido concluyentes en cuanto a demostrar la presencia de algunas de estas sustancias en el 100% de las muestras estudiadas en la provincia de Cautín (CAMPOS, 1990). Por otra parte, en las comunas de Osorno y Río Negro se encontró que la mayoría de los pesticidas estudiados en leche humana (HCB, α -BHC, β -BHC, Lindano, Heptacloro, Heptacloro epóxido, Aldrín, Dieldrín, Endrín y DDT y metabolitos) estaban presentes en niveles por sobre los límites máximos permitidos [tomando como referencia los LMP de leche de vaca] (BECERRA, 1991). Con respecto a la Ingesta Diaria Admitida (IDA), en el mismo estudio se demostró que todos los pesticidas la sobrepasaban con la excepción de Lindano en ambas comunas y Dieldrín en la comuna de Osorno.

Todos los antecedentes hasta ahora presentados, indican claramente la existencia de un problema ambiental aún no resuelto. A esta situación contribuyen, entre otros factores, el que los pesticidas organoclorados por sus características físico-químicas de poca solubilidad en agua, ser estables a la luz solar, a la humedad, al aire y al calor, se transformen en sustancias persistentes en el medio ambiente a lo largo del tiempo. Conocidos los efectos nocivos y acumulativos de estas sustancias en las etapas tempranas de la vida, pudieran también, a corto, mediano o largo plazo tener efectos tóxicos, o bien expresarse en las generaciones futuras, dependiendo éstos del mecanismo de toxicidad y el período de latencia de la enfermedad ambiental (IFCS, 2003). En este sentido, son numerosos los investigadores que han señalado su preocupación acerca de los efectos que sobre los organismos vivos tienen las sustancias que se comportan como xenobióticos ambientales (SOTO *et al.*, 1994, SUMPTER y

JOBLING 1995, RONCO *et al.*, 2001a, ZOU y MATSUMURA 2003), la mayoría de ellas con acción similar al que tienen las hormonas.

En el contexto de las medidas de control, orientadas a interrumpir la cadena de contaminación ambiental por pesticidas y otras sustancias nocivas, se debe tener en cuenta que estos deben ser programas de aplicación inmediata, pero con resultados concretos posiblemente a mediano y largo plazo. Uno de los tantos aspectos a tener presente, relativos a la contaminación de leches, es considerar al forraje como una fuente potencial de contaminación por p.o. para los animales. En este sentido, se ha destacado que una vaca produce leche con una concentración hasta diez veces superior a la del forraje ingerido, de acuerdo a los estudios realizados por Heeschen, citados por MARTÍNEZ y JUÁREZ (1979).

Se sabe que los distintos métodos de pasteurización de la leche resultan ineficaces para eliminar la presencia de p.o. (PINTO, 1990b). Por otra parte, estudios realizados con DDT y Dieldrín por HUGUNIN y BRADLEY (1971), demostraron que estas sustancias forman complejos entrelazados con las proteínas de la capa superficial del glóbulo graso lácteo. Estudios posteriores de DANTHINE *et al.* (2000), en relación con la estructura de la membrana del glóbulo graso de la leche, han aportado nuevos elementos para entender el comportamiento de los residuos de pesticidas presentes en la leche. Los componentes estructurales de la membrana, complejos proteicos, fosfolípidos, glicoproteínas, lípidos neutros y sales minerales, entre otros, y su particular distribución y orientación en ella explicarían su función como emulsificantes naturales de la materia grasa de la leche en un medio hidrófilo; permitiendo también comprender la afinidad y persistencia de residuos de pesticidas presentes en productos lácteos.

En resumen, a la luz de la información disponible, se puede señalar que el único método efectivo para evitar los efectos nocivos de residuos de p.o. sobre los organismos vivos, es evitar la incorporación de estas sustancias a la

cadena trófica alimentaria. La aplicación de métodos alternativos al uso de pesticidas en el manejo de cultivos, como es el caso de los Biopesticidas (empleo de organismos vivos) conducentes a la obtención de bioalimentos, resulta por el momento ser un procedimiento difícil de poner en práctica dado su alto costo (VEGA DE KUYPER, 2002).

Considerando los distintos estudios que han demostrado la presencia de residuos de p.o. en leche y la disminución de dichos niveles a través del tiempo, no cabe dudas que la aplicación de disposiciones legales por parte del Ministerio de Agricultura prohibiendo el uso de plaguicidas organoclorados en áreas agrícolas, han permitido reducir en forma significativa su presencia en los suelos de cultivo y pastoreo. Sólo de esta manera se puede explicar, que la leche actualmente disponible para el consumo de la población tenga menor cantidad de residuos, aún cuando provenga de un área geográfica similar a aquella cuyos estudios previos demostraron la presencia de niveles de p.o. significativamente más elevados en leche de vaca.

Son necesarios nuevos estudios y monitoreos acerca de la presencia de residuos de p.o. en la leche, los que mantenidos en el tiempo, pueden entregar información actualizada para la adopción de políticas sanitarias eficientes y con fundamento científico. De esta manera se entiende el rol del Estado por una parte, y por otra, el de la Empresa privada en el control de calidad de los alimentos.

5. CONCLUSIONES

En la presente investigación, se demostró la presencia de Heptacloro+epóxido en el 100% de las muestras de leche provenientes de la Novena y Décima Regiones. Para los p.o. (alfa+beta)-HCH, γ -HCH y Aldrín+Dieldrín, los porcentajes de muestras positivas fueron de 29, 27 y 29% respectivamente.

Sólo el 6,25% de las muestras de Heptacloro epóxido dio valores por sobre los establecidos como LMP por la legislación vigente; para el resto de las muestras positivas los niveles de éste y otros pesticidas estuvieron por debajo de los niveles máximos permitidos.

No hubo diferencias significativas, al comparar los niveles de p.o. medidos en muestras de leche provenientes de la Novena y Décima Regiones..

Al comparar la distribución estacional, hubo predominio de muestras positivas sólo para los pesticidas (alfa+beta)-HCH en las estaciones de invierno y primavera. Este hecho se repitió en las dos Regiones estudiadas, con predominio en invierno para las muestras provenientes de la Novena y Décima Región, pero en ninguna de estas situaciones las diferencias tuvieron significancia estadística.

Los niveles de p.o. encontrados en muestras de leche UHT en este estudio, no representan un riesgo de intoxicación aguda para la población consumidora. Sin embargo, si se tiene en cuenta la extensa información bibliográfica existente respecto a los riesgos para la salud a largo plazo, especialmente en la población infantil, éste resulta ser un problema de salud ambiental aún no resuelto.

Las medidas legales que han prohibido el uso de pesticidas organoclorados en Chile, siendo eficientes, hacen necesario mantener un monitoreo permanente para asegurar a la población el consumo de leche sin la presencia de sustancias nocivas para la salud.

6. RESUMEN

La evaluación de los riesgos que para la Salud humana y animal representa el consumo de alimentos contaminados con sustancias químicas potencialmente nocivas, constituye un desafío permanente para los profesionales vinculados al área de producción y procesamiento de alimentos.

En el presente estudio, se midió la presencia de residuos de pesticidas organoclorados en leche UHT procedentes de las Regiones IX y X, y se compararon con aquellos establecidos por la legislación vigente como límites máximos permitidos (LMP) e ingesta diaria admisible (IDA).

Los resultados demostraron la presencia de al menos un grupo de pesticidas en el 100% de las muestras estudiadas. Éstos correspondieron a Heptacloro+epóxido (100%), (alfa+beta)-HCH (29%), Aldrín+Dieldrín (29%) y Lindano (27%) con valores para la relación \bar{x}/LMP de 0,031; 0,286; 0,002 y 0,004 respectivamente. Sólo el 6,25% de las muestras dieron valores por sobre los LMP, correspondiendo en su totalidad a (alfa+beta)-HCH. Respecto a las concentraciones de pesticidas encontradas y su proyección con las ingesta diarias admisibles, éstas dieron valores muy por debajo de los niveles de riesgo de intoxicación aguda para la población consumidora.

El análisis estadístico demostró que no hubo diferencias significativas respecto a la presencia y niveles de los distintos pesticidas estudiados y la procedencia de las muestras, tanto en el nivel regional como estacional.

Estos resultados permiten deducir que todavía existen residuos de pesticidas organoclorados contaminantes en el medio ambiente, a pesar que el uso de estas sustancias en Chile se encuentra prohibido desde hace casi dos décadas. Aún cuando estos niveles de residuos presentes en la leche pasteurizada UHT no representan un peligro de intoxicación aguda para la población consumidora, sí sus efectos a largo plazo pudieran tener efectos nocivos para la salud.

SUMMARY

The risks that represent consuming contaminated foods with chemical substances potentially poisoning for human and animal health were evaluated being a constant challenge for professionals linked to the production and processing of foods.

In the present study, the presence of organochloride pesticide residues in UHT milk from IX and X Regions were measured, and they were compared with the ones established by the actual ruling as maximum limits allowed (LIVIP) and the admissible daily feeding (IDA).

The results showed the presence of the following percentages of positive samples: Heptachlor+ epoxide (100%), (alfa+beta)-HCH (29%), Aldrin+Dieldrin(29%) and Lindane(27%) with values to \bar{x} /LMP of 0,031; 0,286; 0,002 and 0,004 respectively. Only the 6,25% of the samples were over LIVIP, being in its totality to (alfa+beta)-HCH. With respect to pesticides concentrations found and its projections on the admitted daily feeding, the values were very low with respect to the risk levels of acute intoxication for the consumer population.

The statistic analysis showed there were no significant differences with respect to the presence and levels for the different pesticides studied and the samples precedence, as well in the regional level as the seasonal one.

These results allow to conclude that there is still the presence of residues of organochloride pesticides contaminating the environment, in spite the use of these substances in Chile is forbidden since two decades ago. Even these levels of present residues in UHT pasteurised milk do not represent intoxication danger for the consumer population, its effects a long term could have poisoning effects on human health.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ALEXANDER, FE., PATHEIRA, SL., BIONDI, A., BRANDALISE S., CABRERA ME. y CHAN, LC., 2001. Transplacental chemical exposure and risk of infant leukemia with MLL gene fusion. *Cancer Res* 61: 2542-2546.
- AMIOT, J. 1991. *Ciencia y Tecnología de la Leche*. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza (España), 208-210 p.
- AMV EDICIONES. 1994. *Nuevas Normas de Calidad de los Alimentos*. Mundi Prensa, Madrid (España). 174 p.
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. ATSDR. 1993. *ToxFAQs™ para Heptacloro/ Epóxido de Heptacloro*. Atlanta,GA: Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades.
- _____, 2002. *ToxFAQs™ para Aldrín y Dieldrín*. Atlanta, GA: Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades.
- BADUI, S.. 1996. *Diccionario de Tecnología de los Alimentos*. Alhambra Mexicana. México. 199, 152, 153, pp.
- BARRAL, R., POZO, K., URRUTIA, R., CISTERNAS, M., PACHECO P. y FOCARDI, S. 2001. Plaguicidas organoclorados persistentes en sedimentos de tres lagos costeros y un lago andino de Chile central. *Bol. Soc. Chil. Quím.* 46 (2): 149 -159.

- BARRERA, M. 2004. Estándares Antropométricos para Evaluación del Estado Nutritivo. INTA, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 7p.
- BASUALTO, J. 1971. Contaminación ambiental con pesticidas. En: Primer Curso Nacional de Pesticidas para Ingenieros Agrónomos del Sector Estatal. Antumapu. 42-54.
- BECERRA, O. 1991. Determinación de pesticidas organoclorados en leche materna proveniente de la provincia de Osorno. Tesis Licenciado de Medicina Veterinaria. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Fac. Cien. Vet. 36-38 p.
- BIRNBAUM, L. y FENTON, S. 2003. Cancer and Developmental Exposure to Endocrine Disruptors. Environ Health Perspect 111:389-394.
- CALLE, E., FRUMKIN, H. HENLEY, J., SAVITZ, D. y THUN, M. 2002. Organochlorines and Breast Cancer Risk. CA Cancer J Clin 52: 301-309.
- CAMPOS, R. 1990. Residuos de Pesticidas Organoclorados en Leche Materna, de la Provincia de Cautín. Tesis Químico Laboratorista. Temuco. Universidad de la Frontera, Fac. Ing. y Adm. 10 p.
- CARRASCO, E. y PRIMO, J. 1980. Química Agrícola II Plaguicidas y Fitorreguladores. Ed. Alhambra, España. 639 p.
- CHARLIER, C., ALBERT, A., HERMAN, P., HAMOIR, E., GASPARD, U., MEURISSE, M. y PLOMTEUX, G. 2003. Breast and serum organochlorines residues. Occup Environ Med 60: 348-351.

CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN. NCh 1525. 1979.
Residuos de pesticidas. Límites máximos permitidos en los alimentos.

CHILE, MINISTERIO DE SALUD. 1983. Resolución exenta N° 1.450 del 13 de diciembre de 1982. Fija las tolerancias máximas de residuos de pesticidas en los alimentos de consumo interno. Diario Oficial de la Republica de Chile N° 31.456.

CHILE, SERVICIO AGRÍCOLA GANADERO, SAG 1987. Resolución exenta N° 2142. Diario Oficial de la República de Chile, N° 39.902. Prohíbe la importación, fabricación, venta, distribución y uso de los plaguicidas Dieldrín, Endrín, Heptacloro y Clordán.

_____ 1988. Resolución exenta N° 2.003. Prohíbe la importación, fabricación, venta, distribución, y uso del plaguicida Aldrín.

CHILE, MINISTERIO DE SALUD. 1998. Ordinario 4C7N° 3659, especificaciones técnicas de la Leche Purita fortificada.

CHILE, MINISTERIO DE SALUD. 1999. Resolución exenta N° 581 de 23 de febrero de 1999. Fija tolerancias máximas de residuos de plaguicidas en alimentos de consumo interno. Diario Oficial de la República de Chile, 6 de marzo de 1999.

CHILE, MINISTERIO DE SALUD, DEPARTAMENTO DE EPIDEMIOLOGÍA. 2000. Situación Epidemiológica de las Intoxicaciones Agudas por Plaguicidas. 44p.

CHILE, SERVICIO AGRÍCOLA GANADERO, SAG. 2004. Inventario Nacional de Existencias de Plaguicidas Caducados COPs. (Plaguicidas Agrícolas). 115p.

CODEX ALIMENTARIUS. 1992. Programa Conjunto FAO/OMS Sobre Normas Alimentárias. Comisión del Codex Alimentarius. Volumen 1, Segunda Edición, FAO, Roma, 331p.

COSTABEBER, I. y EMANUELLI, T. 2002. Influencia de hábitos alimentarios sobre las concentraciones de pesticidas organoclorados en tejido adiposo. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 22 (1). (disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0101-20612002000100010&lng=es&nrm=iso&tlng=es. Consultado 13 de febrero 2004)

DANTHINE, S. BLECKER, C. PAQUOT, M. INNOCENTE, N. y DEROANNE, C. 2000. Évolution des connaissances sur la membrane du globule du lait : synthèse bibliographique. *Lait* 80:209-222.

DOMINGUEZ, F. 1998. Plagas y Enfermedades de las plantas cultivadas. Mundi-Prensa. Madrid, España. 90 p.

FALCK, F., RICCI, A.; WOLFF, S.; GODBOLD, J. y DECKERS, P.. 1992. Pesticides and Polychlorinated Biphenyl Residues in Human Beast Lipids and Their Relation to Breast Cancer. *Archives of Environmental Health.* 47 (2): 143-146.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 1982. ROME. Criterios ecológicos para el registro de plaguicidas. pp. 8-9

_____1986. Código internacional de conducta para la distribución y utilización de plaguicidas. 6-10 p.

FENNEMA, O. 1993. Química de los Alimentos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, (España), 915 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-RISCO, M., VILLAMIEL, M., y LÓPEZ-FANDIÑO, R. 2002. Effect of homogenisation on protein distribution and proteolysis during storage of indirectly heated UHT milk. Lait 82:589-599.

GESCHE, E. 1991. Residuos en carne. Informativo sobre carne y productos cárneos. Centro Tecnológico de la leche, Universidad Austral de Chile, 29 p.

GOODMAN, L. y GILMAN, A.. 1994. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Editorial Médica Panamericana. México. 1569 p.

HEESCHEN, W., y BLUTHGEN, A., 1979. HCH (Hexachlorocyclohexano) residues in milk, Milchpraxis 17: 80-81. Original no consultado. Dairy Sci. Abs., 1981. 43(12) N° 8.285.

- HERMOSILLA, C. 1989. Determinación de pesticidas en leche materna proveniente de la provincia de Valdivia. Tesis Licenciado de Medicina Veterinaria. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Fac. Cien. Vet. 51 p.
- HERNÁNDEZ, N., MENÉNDEZ, Z., MONTADA, D., ISLA, M. y VEGA, E. 2000. Efectos colaterales del Lindano en niños con pediculosis. *Rev. Cubana Med. Trop.* 52 (3): 228-229.
- HIGA, J., CROCE, P. y CURCI, O. 1990. Intoxicaciones en la infancia en los países en vías de desarrollo; revisión general de los países de la cuenca del Río de la Plata. *Anales Nestlé* 48: 15, 31 pp.
- HUGUNIN, A. y BRADLEY, R. 1971. Distribution of Organochlorine Pesticides Among Some Milk Components. *J. Dairy Sci.* 54: 355-359.
- INTERGOVERNMENTAL FORUM ON CHEMICAL SAFETY. IFCS. 2003. FORUM IV. Bangkok, Tailandia. 1 – 7 de noviembre de 2003.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, IDF/FIL 1991. Milk and milk products- Guidance on sampling. IDF/FIL Standard 75C:1991. Int. Dairy Fed., Brussels, Belgium.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 1995. Milk and milk products- Guidance on sampling. IDF/FIL Standard 50 C:1995. Int. Dairy Fed., Brussels, Belgium.
- KIM, S. y HARMON, L. 1969. Relationship Between Some Chlorinated Hydrocarbon Insecticides and Lactic Culture Organism in Milk. *Journal of Dairy Science.* 53 (2): 155 – 160.

- LEBENTHAL, E. 1985. Gastroenterología y Nutrición en Pediatría. Salvat Editores, S.A. Barcelona, España. pp. 323-324
- LUQUET, F., GOURSAUD, J. CASALIS, J. 1974. Les residues de pesticides organochlorés dans les lait animaux et humains. Le Lait. 54: 269-301.
- MARCHETTI, N. 2001. Intoxicaciones agudas por plaguicidas. Rev Chil Salud Pública 5 (2-3) :116-118.
- MARTÍNEZ, I. y JUÁREZ, M. 1979. Residuos de pesticidas organoclorados en leche y productos lácteos comerciales. Rev. Española de Lechería (12) : 59-74.
- MEINERT, R., SCUZ, J., KAATSCH, P. y MICHAELI, J. 2000. Leukemia and non Hodgkin's lymphoma in childhood and exposure to pesticides : results of a register-base-case-control study in Germany. Am J Epidemiol 7 :639-646.
- MONTES, L., TAMAYO, R., PINTO, M. y CRISTI, R.. 1986. Residuos de pesticidas en carnes de la Décima Región. Amb. y Des. 2 (2): 91-96
- MUÑOZ, M. 1993. Determinación de pesticidas organoclorados en leche materna proveniente de la provincia de Llanquihue. Tesis Licenciado de Medicina Veterinaria, Valdivia. Universidad Austral de Chile, Fac. Cien. Vet. 40-41 p.
- OLEA, N. y FERNÁNDEZ, M. 2001. Congreso de implementación del convenio de contaminantes orgánicos persistentes. 26-27 noviembre de 2001, Madrid, España. 2p.

- PARIS, E. y RÍOS, J. 2001. INTOXICACIONES: Epidemiología, clínica y tratamiento. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 257-258.
- PINTO, M., MONTES, L., TAMAYO, R. y CRISTI, R. 1986. Determinación de residuos de pesticidas organoclorados en carne bovina, Cromatografía Gas-Líquido. *Agro Sur* 14 (1): 30-41.
- PINTO, M., MONTES, L., TAMAYO, R. y CRISTI, R. 1987. Determinación de residuos de pesticidas organoclorados en grasa perirenal de bovinos. *Agro Sur*. 15 (2): 62-74.
- PINTO, M., ANRIQUE, R., CARRILLO, R., MONTES L., DE LA BARRA, M. y CRISTI, R. 1990a. Residuos de plaguicidas organoclorados en alimentos para uso animal. *Agro Sur* 18 (2); 67-77.
- PINTO, M., MONTES, L., PINTO, V. M., CRISTI R. y VERGARA G.. 1990b. Residuos de pesticidas organoclorados en leche pasteurizada de 12 plantas lecheras. Chile. *Arch. Med. Vet.* 22 (1); 85-94.
- PRADO, G., DÍAZ, G., VEGA, S., LEÓN, GONZÁLEZ, M., PÉREZ, M., URBAN, G.; GUTIÉRREZ, R., RAMÍREZ, A. y PINTO, M. 1998. Residuos de plaguicidas organoclorados en leche pasteurizada comercializada en Ciudad de México. *Arch. Med. Vet.* 30 (1): 55-66.
- PRADO, G., CARABIAS, R., RODRÍGUEZ, E. y HERRERO, E. 2002. Presencia de residuos y contaminantes en leche humana. *Rev. Esp. Salud Pública* 76 (2).

- REED, M. y GAL, P. 2000. Principles of Drugs Therapy. In: Behrman RE, *et al.* (Editores). Nelson Textbook of Pediatrics. 16th Edition, W. B. Saunders Company, Philadelphia. 2229, 2334 pp.
- ROJAS, A., OJEDA, M. y BARRAZA, X. 2000. Malformaciones congénitas y exposición a pesticidas. Rev Méd Chile. 128: 399-404.
- RONCO, A., LLANOS, M., VALLADARES, L. y GARRIDO, A. 2001a. Riesgo potencial para la salud humana de los xenobióticos ambientales como moduladores endocrinos. Rev. Chil. Nutr. 28 (3); 406-413.
- RONCO, A., VALDÉS, K., MARCUS, D. y LLANOS M. 2001b. The mechanisms for lindane-induced inhibition of steroidogenesis in cultured rat Leydig cells. Toxicol 159: 99-106.
- SOLOMON, G. y WEISS, P. 2002. Chemical Contaminants in Breast Milk: Time Trends and Regional Variability. Environ Health Perspect 110: A339-A347.
- SOTO, A., CHUNG, K. y SONNEENSCHIN, C. 1994. The pesticides Endosulfan, Toxaphene, and Dieldrin Have Estrogenic Effects on Human Estrogen-Sensitive Cells. Environ Health Perspect 102: 380-383.
- SUMPTER, P. y JOBLING, S. 1995. Vitellogenesis as a Biomarker for Estrogenic Contamination of the Aquatic Environment. Environ Health Perspect 103 (Suppl 7):173-178.
- STELLMAN, S., DJORDJEVIC, V., BRITTON, J., 2000. Breast Cancer Risk Relation to Adipose Concentrations of Organochlorine Pesticides and

Polychlorinated Biphenyls in Long Island, New York. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* (9):1241-1249.

TETRA PAK. 2000. Leche, alimento indispensable. Editorial y Consultoría en Nutrición Limitada. Sao Paulo (Brasil), 16 p.

TRIVIÑO, I. 1982. Contaminación de leche materna, tejido adiposo de mujeres y leche de vaca por plaguicidas de alto poder residual. *Boletín del Instituto de Salud Pública de Chile*. 23 (1-2); 90-99 p.

UTRERAS, J. 1991. Los plaguicidas y su reglamentación en Chile. Serie Estudios/Biblioteca del Congreso Nacional. Santiago, Chile. 6 (29): 44-58.

VADEMÉCUM. 2004. Vademécum de medicamentos de uso en Chile. Índice farmacológico desarrollado. 10 Edición, RL Editora Ltda., Santiago, Chile, 193 p.

VARGAS, N. 2004. Puericultura. El cuidado de niños y jóvenes en el siglo XXI. Editorial Universitaria S.A. Santiago, Chile. 372 p.

VEGA DE KUYPER, J. 2002. Química del medio ambiente y de los recursos naturales. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 181 p.

VEGA, S., DÍAZ, G., PRADO, G., URBÁN, G., GUTIÉRREZ, R., PÉREZ, N., GONZÁLEZ, M., RAMÍREZ, A., y PINTO, M. 2000. Determinación de plaguicidas organoclorados en mantequilla mexicana. *Rev. Salud Animal*. 22 (1): 41-47.

- WALISZEWSKI, S., AGUIRRE A., INFANZÓN R. y SILICEO J.. 2000. Carry-over of Persistent organochlorine pesticides through placenta to fetus. *Salud Pública Méx.* 42:384-390.
- WILLET, L., O'DONNELL, F., DURST, H. y KURZ, M. 1993. Mechanism of Movement of Organochlorines Pesticides from Soils to Cows via Forages. *J Dairy Sci* 76:1635-1644.
- WISTUBA, Y. 1991. Determinación de residuos de pesticidas organoclorados en leche materna proveniente de las comunas de Lanco y San José de la Mariquina. Tesis Licenciado en Agronomía. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Fac. Cienc. Agrarias. 5 p.
- WORTHING, CH. 1979. *The Pesticide Manual*. Sixth edition. BCPS publications. London, England. pp.185, 196, 295.
- ZOU, E. y MATSUMURA, F. 2003. Long-term exposure to beta-hexachlorocyclohexano (beta-HCH) promotes transformation and invasiveness of MCF-7 human breast cancer cells. *Biochem Pharmacol* 66(5):831-840.

ANEXOS

**ANEXO 1. Concentración de pesticidas organoclorados en leche UHT
(ppm)**

Región	Estación	Repetición	Abch*	Ghch*	Hept*	Aldiel*
1 ^x	1 ⁺	1	0,00048744	0	0,00017304	0,00002496
1	1	2	0,00056112	0,00001464	0,00024048	0,00017088
1	1	3	0,0004248	0	0,00005976	0,00005952
1	1	4	0,00025464	0	0,00024336	0,00027552
1	1	5	0,00017352	0	0,00013632	0
1	1	6	0	0,000006	0,00015552	0
1	2 ⁺	1	0	0	0,00017976	0
1	2	2	0,0002856	0,00000744	0,00016992	0
1	2	3	0	0,0000384	0,0001896	0
1	2	4	0,00010512	0,00004152	0,00023184	0
1	2	5	0,00028896	0,00016224	0,000306	0
1	2	6	0,00001224	0,00002928	0,000228	0
1	3 ⁺	1	0,00148973	0,00030096	0,00012432	0
1	3	2	0,00624936	0,0000108	0,00020616	0
1	3	3	0	0,00009552	0,00016704	0
1	3	4	0	0,00004032	0,0001884	0
1	3	5	0,00142368	0,00024576	0,00015408	0
1	3	6	0,00079632	0,00009384	0,00014448	0
1	4 ⁺	1	0,0007296	0,00006696	0,00015168	0
1	4	2	0,00244848	0,0000636	0,00020568	0
1	4	3	0	0,00008184	0,00019008	0,00000648
1	4	4	0	0,00004464	0,000312	0
1	4	5	0,00020856	0	0,00015624	0
1	4	6	0,00067416	0,00006816	0,00024768	0
2 ^x	1	1	0,00000336	0	0,0002424	0,0000624
2	1	2	0	0,000006	0,00024936	0
2	1	3	0,0000768	0,00001056	0,00026352	0,0000672
2	1	4	0,00160152	0,00026232	0,0001164	0,00000048
2	1	5	0	0,00003168	0,00021096	0
2	1	6	0,00039192	0,00005568	0,00016872	0
2	2	1	0,0001584	0	0,00019152	0,0000216
2	2	2	0,00041424	0,00004464	0,00017736	0
2	2	3	0	0,00002232	0,00022368	0,00003168
2	2	4	0,00053856	0,00000696	0,0001548	0
2	2	5	0,00001008	0,00004248	0,00008496	0,000084
2	2	6	0,00091932	0,00006624	0,00019836	0,0000006
2	3	1	0,00787056	0	0,00021192	0

2	3	2	0,00001152	0,00010728	0,00023808	0,0000012
2	3	3	0,00082728	0	0,00015528	0
2	3	4	0,00182712	0,0000252	0,00015864	0
2	3	5	0	0	0,00012984	0
2	3	6	0,00062064	0,00003624	0,00005664	0,00002928
2	4	1	0,00092136	0,00012648	0,00020352	0
2	4	2	0,0076596	0,00006504	0,00025776	0
2	4	3	0,0003516	0,0000348	0,0003192	0
2	4	4	0,00041688	0,0000108	0,0002112	0
2	4	5	0	0	0,00016272	0
2	4	6	0	0	0,00010104	0

1^x : IX Región
 2^x : X Región
 1⁺ : Verano
 2⁺ : Otoño
 3⁺ : Invierno
 4⁺ : Primavera
 Abhch* : ($\alpha+\beta$) – HCH
 Ghch* : γ -HCH (Lindano)
 Hept* : Heptacloro + epóxido
 Aldiel* : Aldrín + Dieldrín

ANEXO 2. Análisis de varianza univariante (5%) para los pesticidas organoclorados ($\alpha+\beta$)-HCH

Between-Subjects Factors

	N	
región	1	24
	2	24
estación	1	12
	2	12
	3	12
	4	12

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: abhch

F	df1	df2	Sig.
2,771	7	40	,019

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: región+estación+región * estación

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: abhch

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	,000 ^a	8	,000	2,258	,043
región	,000	1	,000	,426	,518
estación	,000	3	,000	1,983	,132
región * estación	,000	3	,000	,135	,939
Error	,000	40	,000		
Total	,000	48			

a. R Squared = ,311 (Adjusted R Squared = ,173)

No hay diferencias estadísticamente significativas para ($\alpha+\beta$)-HCH, tanto a nivel regional como estacional ($P>0,05$).

ANEXO 3. Análisis de varianza univariante (5%) para el pesticida organoclorado γ -HCH (Lindano)

Between-Subjects Factors

		N
región	1	24
	2	24
estación	1	12
	2	12
	3	12
	4	12

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: ghch

F	df1	df2	Sig.
3,619	7	40	,004

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: región+estación+región * estación

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ghch

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	,000 ^a	8	,000	5,364	,000
región	,000	1	,000	1,062	,309
estación	,000	3	,000	1,303	,287
región * estación	,000	3	,000	3,161	,035
Error	,000	40	,000		
Total	,000	48			

a. R Squared = ,518 (Adjusted R Squared = ,421)

No hay diferencias estadísticamente significativas para γ -HCH, tanto a nivel regional como estacional ($P>0,05$).

ANEXO 4. Análisis de varianza univariante (5%) para los pesticidas organoclorados Heptacloro + epóxido

Between-Subjects Factors

		N
región	1	24
	2	24
estación	1	12
	2	12
	3	12
	4	12

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: hept

F	df1	df2	Sig.
,479	7	40	,844

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: región+estación+región * estación

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: hept

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	,000 ^a	8	,000	63,814	,000
región	,000	1	,000	,033	,856
estación	,000	3	,000	1,461	,240
región * estación	,000	3	,000	1,098	,361
Error	,000	40	,000		
Total	,000	48			

a. R Squared = ,927 (Adjusted R Squared = ,913)

No hay diferencias estadísticamente significativas para Heptacloro + epóxido, tanto a nivel regional como estacional (P>0,05).

ANEXO 5. Análisis de varianza univariante (5%) para los pesticidas organoclorados Aldrín + Dieldrín

Between-Subjects Factors

		N
región	1	5
	2	9
estación	1	7
	2	4
	3	2
	4	1

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: aldielmo

F	df1	df2	Sig.
1,768	4	9	,219

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: región+estación+región * estación

Tests of Between-Subjects Effects

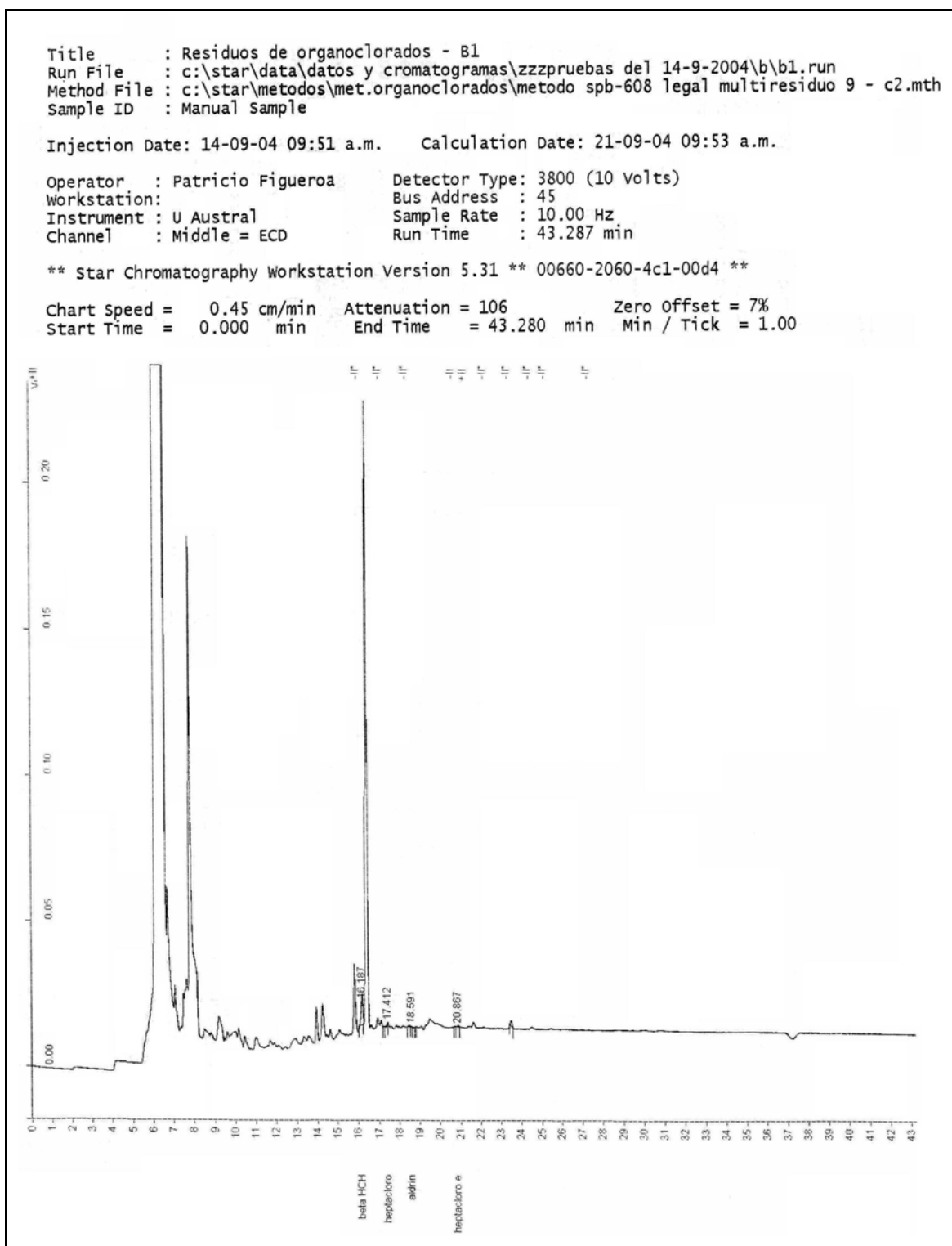
Dependent Variable: aldielmo

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	313,502 ^a	5	62,700	77,502	,000
región	1,268	1	1,268	1,567	,242
estación	1,247	3	,416	,514	,683
región * estación	,000	0	.	.	.
Error	7,281	9	,809		
Total	320,783	14			

a. R Squared = ,977 (Adjusted R Squared = ,965)

No hay diferencias estadísticamente significativas para Aldrín + Dieldrín, tanto a nivel regional como estacional (P>0,05).

ANEXO 6. Trazado Cromatográfico de pesticidas organoclorados en leche UHT



ANEXO 7. Concentración de pesticidas en leche UHT

Print Date: Tue Sep 21 09:53:23 2004 Page 1 of 2

Title : Residuos de organoclorados - B1
 Run File : c:\star\data\datos y cromatogramas\zzzpruebas del 14-9-2004\b\bl.run
 Method File : c:\star\metodos\met.organoclorados\metodo spb-608 legal multiresiduo 9 - cl.mth
 Sample ID : Manual Sample

Injection Date: 14-09-04 09:51 a.m. Calculation Date: 21-09-04 09:52 a.m.

Operator : Patricio Figueroa Detector Type: 3800 (10 Volts)
 Workstation: Bus Address : 45
 Instrument : U Austral Sample Rate : 10.00 Hz
 Channel : Middle = ECD Run Time : 43.287 min

* Star Chromatography Workstation Version 5.31 ** 00660-2060-4c1-00d4 **

Run Mode : Analysis
 Peak Measurement: Peak Area
 Calculation Type: External Standard

Peak No.	Peak Name	Result (ppb)	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes
1	alfa HCH	0.152	14.630	-0.085	16043	BB	5.1	
2	gamma HCH	1.254	16.187	0.060	75369	BB	6.9	
3	delta HCH	0.010	17.610	-0.062	2108	BP	3.6	
4	trans-clorda no result		22.139	0.223	1349	BB	0.0	C*
Totals:		1.416		0.136	95069			

Status Codes:
 * - No result could be calculated; check calibration curve
 C - Out of calibration range

Total Unidentified Counts : 2100 counts

Detected Peaks: 6 Rejected Peaks: 1 Identified Peaks: 4
 Multiplier: 1 Divisor: 1 Unidentified Peak Factor: 0