

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DETERMINACION DE RESIDUOS DE PESTICIDAS EN LECHE POR
CROMATOGRAFIA EN FASE VAPOR

SANTIAGO CAPELLA VIZCAINO

QUIMICO

1973

1867



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PRESIDENTE	ARMANDO MANJARREZ MORENO
VOCAL	FRANCISCO FERNANDEZ NORIEGA
SECRETARIO	ROSA MARTHA GONZALEZ MUÑOZ
1er. SUPLENTE	VICTOR M. BRAVO CORONADO
2do. SUPLENTE	MARTHA RODRIGUEZ PEREZ

DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES DE LA FACULTAD DE QUIMICA

Sustentante: SANTIAGO CAPELLA VIZCAINO

Asesor del tema: ARMANDO MANJARREZ M.

RECONOCIMIENTO

Al Dr. Francisco Javier Garfias, Jefe de la División de Estudios Superiores de la Facultad de Química, y a los miembros de la sección de Cromatografía de Gases, cuya colaboración me permitió realizar este trabajo.

Diciembre de 1973.

Santiago Capella V.

INDICE

	Pag.
INTRODUCCION	1
1. - ANTECEDENTES	4
1.1. - Generalidades y presentación del problema	5
1.2. - Determinación de pesticidas residuales	10
1.3. - Extracción	12
1.4. - Cromatografía	14
1.4.1. - Definición y generalidades	15
1.4.2. - Métodos de análisis	16
1.4.2.1. - Análisis cualitativo	17
1.4.2.2. - Análisis cuantitativo	22
1.4.3. - Detector de captura de electrones	24
2. - PARTE EXPERIMENTAL	25
2.1. - Desarrollo del método	26
2.1.1. - Extracción	26
2.1.2. - Análisis	26
2.1.3. - Eficiencia del método	30
2.2. - Procedimiento	30

	Pag.
2.2.1. - Extracción	30
2.2.2. - Sistema cromatográfico	33
2.2.3. - Análisis cualitativo	34
2.2.4. - Análisis cuantitativo	34
3. - RESULTADOS	38
3.1. - Separación cromatográfica	39
3.2. - Análisis cualitativo	39
3.3. - Análisis cuantitativo	42
3.4. - Eficiencia del método	45
4. - CONCLUSIONES	47
ANEXO I	51
ANEXO II	61
ANEXO III	78
BIBLIOGRAFIA	81

INTRODUCCION

Uno de los problemas más controvertidos de los últimos años es el del uso masivo y sistemático de pesticidas. Alrededor de él se han manejado un sinnúmero de argumentos en pro y en contra, y de ellos, las conclusiones más firmes que se desprenden son las siguientes:

a) Que los residuos que dejan los pesticidas sí tienen efectos contaminantes.

b) Que como consecuencia de esa contaminación ya hay especies animales que han sido dañadas.

c) Que la política sobre el uso de pesticidas debe ser consecuencia de los niveles residuales presentes y de las necesidades económicas de cada región.

d) Que en la mayoría de los países, como en el caso de México, no hay información suficiente para establecer esas políticas.

Como consecuencia de este último punto, la División de Estudios Superiores de esta Facultad, decidió iniciar el desarrollo de técnicas analíticas tendientes a implantar los métodos de determinación de residuos de pesticidas en nuestro medio, tanto para llevar a cabo este tipo de estudios, como para formar el equipo humano capaz de --

preparar técnicos en la especialidad.

De entre los varios problemas de pesticidas residuales que se consideraron, se decidió investigar los niveles presentes en la leche que se consume en el país. El objetivo del presente trabajo es el desarrollo de la técnica más adecuada para esta determinación. Los ca pítulos que lo integran son:

1.- Antecedentes: se da un resumen de los aspectos generales del problema, los motivos por los que se seleccionó la leche y por qué se fijó la atención especialmente en el DDT; se hace también una breve exposición del problema analítico y de los fundamentos y genera lidades del sistema utilizado.

2.- Parte experimental: está formado por dos secciones: el desarrollo de la técnica y el procedimiento en detalle.

3.- Resultados: se presentan los resultados numéricos obtenidos en las diferentes etapas del método desarrollado, así como de las determinaciones del limitado muestreo que se efectuó.

4.- Conclusiones.

Anexos.

Bibliografía

1.- ANTECEDENTES

1.1.- Generalidades y presentación del problema.

Pesticida y plaguicida son términos genéricos que se refieren a todo tipo de sustancias utilizadas para controlar los organismos -- perjudiciales a los propósitos del hombre (1). Se pueden clasificar por su composición química, su toxicidad, su persistencia o por el tipo de organismos que destruyen (Tabla 1.1-I). Probablemente es ta última clasificación sea la más común (2).

Los pesticidas de uso más extendido son los insecticidas. - Del consumo aparente de plaguicidas en México, en el año de 1971, el 79.5% corresponde a los insecticidas (3), a los que podemos divi dir, como lo indica la tabla 1.1-II (4), en tres clases según su es-- tructura química básica.

Cuando este tipo de sustancias se utiliza para el control de - plagas agrícolas o ganaderas, se presenta el peligro de que se intro duzcan en la red alimenticia del hombre. La velocidad con que se - descomponen en sustancias menos tóxicas se conoce como persisten cia, la cual depende tanto del tipo de sustancia, como de las caracte-- rísticas del medio en que se encuentre; así que no es de extrañar la - falta de concordancia entre la multitud de datos publicados. En la ta-

TABLA 1.1-I CLASIFICACION DE PLAGUICIDAS

TIPO	ORGANISMO QUE DESTRUYE
Insecticidas	Insectos
Acaricidas	Arácnidos
Nematicidas	Nemátodos
Fungicidas	Hongos
Herbicidas	Maleza
Rodenticidas	Roedores

TABLA 1.1-II CLASIFICACION DE INSECTICIDAS

CLASE	UNIDAD ESTRUCTURAL
Organoclorados	$\begin{array}{c} \\ -C- \\ \\ - \\ \end{array} \begin{array}{c} \\ -Cl \\ \end{array}$
Organofosfatados	$\begin{array}{c} S \\ \\ -O- \\ \\ -O- \\ \end{array} \begin{array}{c} \\ -P- \\ \\ -O- \\ \end{array}$
Carbamatos	$\begin{array}{c} \diagup \\ N- \\ \diagdown \end{array} \begin{array}{c} \\ -C- \\ \end{array} \begin{array}{c} -O- \\ \end{array}$

bla 1.1-III se indican los valores aproximados de la persistencia en suelos (4). Sin embargo, todos los autores coinciden en que los más persistentes son los organoclorados y es por esto que fijamos la atención en esta clase de insecticidas.

Dentro de los insecticidas organoclorados hay uno que tiene - especial interés, porque se ha utilizado en grandes cantidades en muchos países: el DDT; en algunos de ellos su empleo es ya limitado, - especialmente en los más desarrollados. En México, en 1971, el consumo aparente de DDT fue de 4,634 toneladas, lo que corresponde a un 55.3 % de los insecticidas clorados, al 30.9 % de todos los insecticidas y al 24.6 % del consumo total de plaguicidas (3). Ya que es el que se consume en mayor cantidad, es el que debemos vigilar más - estrechamente.

El DDT es un insecticida prácticamente insoluble en agua; - cuando penetra en organismos con tejidos grasos se acumula y concentra en ellos, de donde difícilmente se eliminan él o sus metabolitos: DDE y DDD (1). Esta liposolubilidad hace que aquellos productos agropecuarios con alto contenido de grasas sean los más expuestos a la contaminación. Uno de estos productos es la leche, que por ser un alimento importante se fomenta su consumo y su producción - debe aumentar rápidamente, lo que puede involucrar un aumento considerable en el uso de plaguicidas y una mayor contaminación en el producto. Esto provocaría que la ingestión del insecticida por el --

TABLA 1.1-III PERSISTENCIA DE INSECTICIDAS EN SUELO

CLASE	VIDA MEDIA
Carbamatos	1 semana
Organofosfatados	1 - 10 semanas
Organoclorados	2 - 4 años

hombre aumentara considerablemente.

Aunque no existen estudios concluyentes, en cuanto a los efectos que contra la salud produciría una ingestión continua de pequeñas cantidades de DDT, las investigaciones señalan como posibles las siguientes (5) :

a) Se transmite de madre a hijo disuelto y concentrado en la grasa de la leche, provocando que disminuya el ritmo de crecimiento de los recién nacidos. Si la dieta es pobre en contenido proteínico el efecto se multiplica, lo que puede ser un problema grave en los países pobres donde el período de lactancia es largo.

b) El DDT puede traspasar la placenta y disminuir el desarrollo del feto; si éste es del sexo femenino se corre el riesgo de provocar infertilidad.

c) En el hígado, altera los mecanismos de metabolización de drogas.

d) Interfiere en los cambios de conductividad $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ alterando la conducción de los impulsos nerviosos.

e) Afecta el balance de agua en las células.

Ante la gravedad de estos efectos ya se han empezado a tomar medidas de carácter internacional. La Organización Mundial de la Salud ha establecido que la dosis de ingestión diaria en adultos no debe ser mayor de 0.01 mg/kg de peso (5). En algunos países, sobre todo en los más desarrollados, se han establecido normas que regulan

el contenido máximo permisible de insecticidas en alimentos; por ejemplo, en los Estados Unidos la tolerancia en la leche es de 0.05 mg/kg para los insecticidas DDT, DDE, DDD o cualquier combinación de ellos (6).

En México, como consecuencia de la Ley Federal para Prevenir y Controlar la Contaminación Ambiental, ya se están elaborando los reglamentos correspondientes (2).

El contenido de DDT en la leche depende de varios factores: el clima, el tipo de ganado, la agricultura de la región, las costumbres en el uso de plaguicidas, etc. Esto da por resultado que los niveles varíen de una región a otra y que sea imposible tratar de elaborar cualquier estimación indirecta. En la tabla 1.1-IV se resumen algunos datos publicados en la literatura.

1.2.- Determinación de pesticidas residuales.

El análisis de pesticidas residuales es un problema difícil de resolver, donde la principal dificultad es disponer de sistemas suficientemente sensibles para trabajar con las pequeñas concentraciones en que normalmente se encuentran: 10^{-4} mg/kg. Los métodos analíticos comunes son imprácticos ya que sería necesario utilizar una gran cantidad de muestra. Las técnicas que se han utilizado con más éxito han sido la cromatografía en papel (9), en placa (10) y en fase vapor (11); las dos primeras, aunque son útiles para la identi-

TABLA 1.1-IV CONTENIDO DE DDT EN LECHE

CONCENTRACION (mg/kg)	REFERENCIA
2 - 4	(2)
0.1 - 1	(7)
0.1 - 0.3	(8)

cación, no son precisas en la determinación cuantitativa. La cromatografía en fase vapor se ha convertido en el sistema más eficiente a partir de 1960, cuando Lovelock y Lipsky desarrollaron el detector de captura de electrones (12 y 13), que es específico y de gran sensibilidad para sustancias con afinidad electrónica como son los insecticidas, y permite identificar y determinar estas sustancias en concentraciones de hasta 10^{-6} mg/kg.

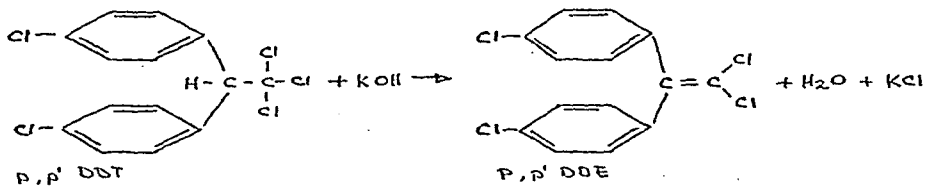
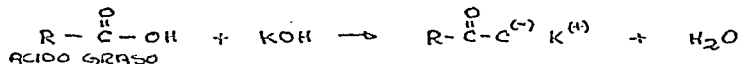
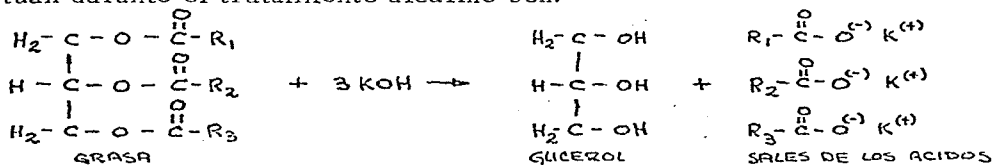
A pesar de la eficiencia que como método analítico tiene la cromatografía en fase vapor con detector de captura de electrones, el problema no está completamente resuelto, pues es necesario extraer previamente los insecticidas para separarlos de los otros compuestos que contiene la muestra y que puedan interferir en el análisis. En el caso de la leche son las grasas, las que provocan la interferencia.

1.3.- Extracción.

De los métodos reportados en la literatura para la extracción de pesticidas residuales de la leche, en la mayoría de ellos se utiliza el método desarrollado por Mills (14) el cual está basado en la técnica de cromatografía en columna empleando Florisil como adsorbente. Hay publicadas varias modificaciones de este método (11, 15 y 16). - Estas técnicas requieren de una inversión considerable de disolventes y de tiempo.

Otro método, completamente distinto pero también de alta efi-

ciencia, es el desarrollado por Schafer (17) y modificado posteriormente por Richardson (18); se limita a una saponificación de la leche con KOH alcohólica y después a una extracción con hexano. Las ventajas que tiene son su simplicidad, su rapidez y que no requiere de grandes cantidades de reactivos; las desventajas son que el insecticida Lindano se descompone y no se puede analizar y, el DDT se transforma en DDE durante la saponificación; esto último no es tan grave, porque el DDE es un metabolito del DDT y siempre debemos buscar los dos; además, desde el punto de vista del análisis por cromatografía en fase vapor es una ventaja, porque el tiempo de retención del DDT es - - aproximadamente del doble que el del DDE; así, con este tratamiento se logra disminuir el tiempo de análisis. Las reacciones que se efectúan durante el tratamiento alcalino son:



1.4.- Cromatografía.

1.4.1.- Definición y generalidades.

Es un método basado en las diferencias de los coeficientes de partición de los componentes de una mezcla, que se distribuyen entre dos fases, una estática o estacionaria, usualmente de gran área superficial, y la otra móvil y fluída (19).

Cuando la fase móvil es un gas, se conoce como cromatografía en fase vapor y es una técnica poderosa para separar sustancias volátiles. La presión de vapor debe ser alta (1 - 1000 Torr) a la temperatura de trabajo (-70 - 400 C) (20).

Si la fase estacionaria es un sólido (cromatografía gas-sólido), el fenómeno principal involucrado en la separación es la adsorción; si es un líquido (cromatografía gas-líquido), que se deposita como una película fina sobre un sólido inerte, lo que ocurre son fenómenos de partición.

El equipo básico para la cromatografía en fase vapor es el que se describe a continuación y se ilustra en la figura 1.4-I (20):

A.- Suministro de gas: se necesita una fuente continua del gas que se utiliza como fase móvil que normalmente es N_2 o He, los cuales deben estar lo más puro posible.

B.- Control de flujo: el flujo es uno de los parámetros importantes que influyen en la eficiencia de la separación y, por lo tanto, se debe contar con un sistema de control lo más exacto posible.

EQUIPO BASICO PARA CROMATOGRAFIA
EN FASE VAPOR

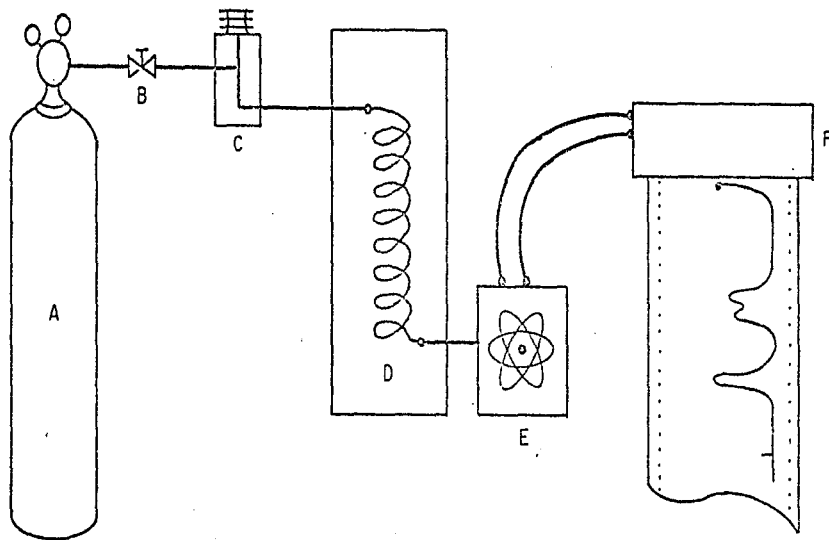


FIG. 1.4 - I

C.- Inyector: es el dispositivo por medio del cual se introduce la muestra al sistema cromatográfico. Es conveniente que durante esta operación no se interrumpa el flujo de gas en la columna. El sistema más común para introducir la muestra es inyectarla con una jeringa (de 1 a 10 μ l) a través de un septum. Existen también inyectores especiales para sólidos y válvulas para gases. El inyector debe estar acoplado a un termostato para que se pueda regular su temperatura, de manera que la muestra se vaporice instantáneamente.

D.- Columna: es la parte central del sistema donde se efectúa la separación; es un tubo de dimensiones variables que puede ser de cobre, aluminio, acero o vidrio y que se empaca con la fase estacionaria. Es necesario que la columna esté dentro de un horno al que le podamos regular la temperatura ya que ésta es uno de los factores que más afecta la separación.

E.- Detector: nos indica la presencia de los componentes cuando emergen de la columna y la cantidad que hay de cada uno de ellos. La temperatura del detector debe ser lo suficientemente alta para evitar que la muestra se condense.

F.- Registrador: es conveniente obtener un registro permanente de la señal generada en el detector. Comúnmente se utilizan registradores potenciométricos que nos dan una gráfica de mvolts vs. tiempo, como la que se muestra en la figura 1.4-II y que se conoce como cromatograma.

El cromatograma proporciona los datos necesarios para estimar la eficiencia y resolución de la separación y para hacer el análisis cualitativo y cuantitativo.

La eficiencia de la columna y las condiciones de separación se estiman en forma cuantitativa por la altura equivalente a un plato teórico (Fig. 1.4-III). El concepto de plato es el mismo que se utiliza en los procesos de destilación que se efectúan en una forma discreta. En las columnas empacadas sólo es teórico pero útil para evaluar su funcionamiento bajo condiciones fijas de operación (20).

La resolución (Fig. 1.4-IV) es una medida de la separación real de dos sustancias que emergen consecutivamente y, por lo tanto, de la eficiencia de todo el sistema (20).

1.4.2.- Métodos de análisis.

1.4.2.1.- Análisis cualitativo.

Cuando las condiciones de operación son constantes, el tiempo que tarda un compuesto en eluirse de la columna es característico de ese compuesto. Este dato se obtiene del cromatograma (Fig. -- 1.4-V) y se llama tiempo de retención (t_R). Se puede utilizar también el tiempo de retención ajustado (t'_R), que es el tiempo de retención menos el tiempo que tarda en emerger un compuesto que no se retenga, como el aire o el frente de un disolvente muy volátil (20).

CROMATOGRAMA

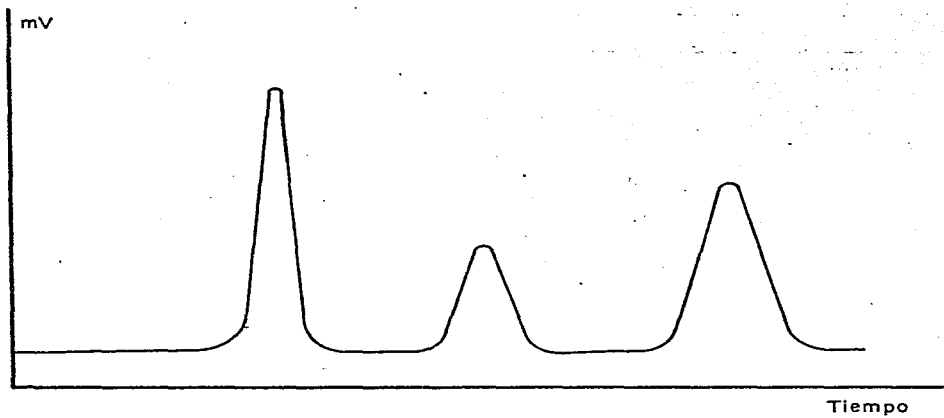
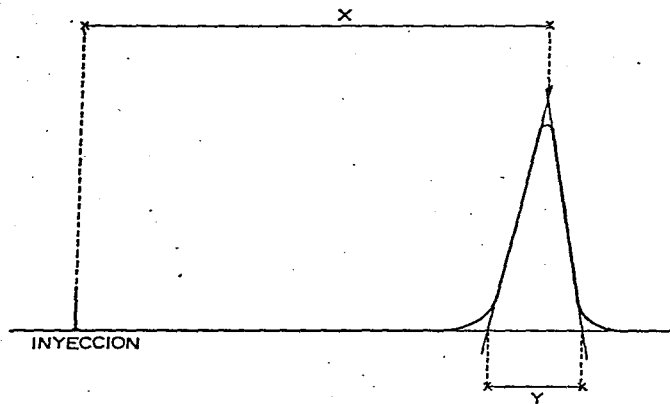


FIG. 1.4-II

EFICIENCIA DE LA COLUMNA



$$AEPT = \frac{L}{N}$$

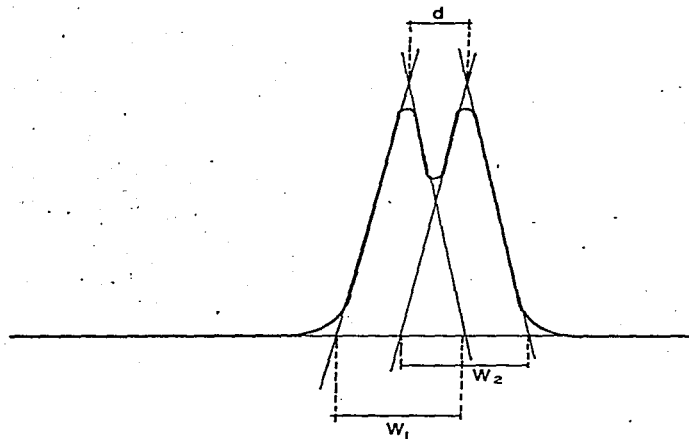
AEPT = Altura equivalente a un plato teórico

L = Longitud de la columna

N = N° de platos teóricos = $16 \left(\frac{X}{Y} \right)^2$

FIG. 1.4 - III

RESOLUCION



$$\text{Resolución} = R = \frac{2d}{W_1 + W_2}$$

d = Distancia entre los máximos

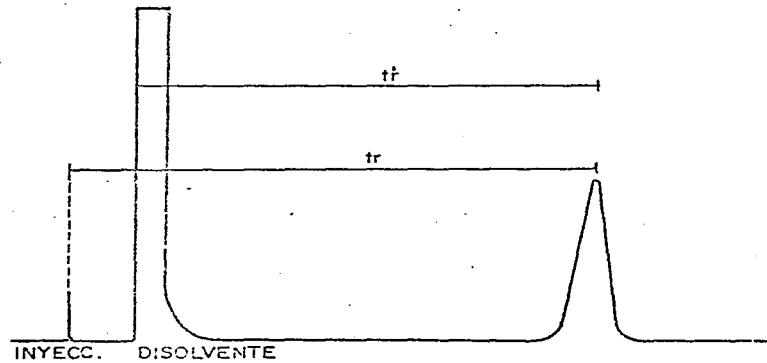
W = Ancho de la base

Si $R=1$ la separación es de 98 %

$R=1.5$ la separación es de 99.7 %

FIG. 1.4 - IV

TIEMPO DE RETENCION



t_r = Tiempo de retención

t_r = Tiempo de retención
ajustado al frente del
disolvente

FIG. 1.4 - V

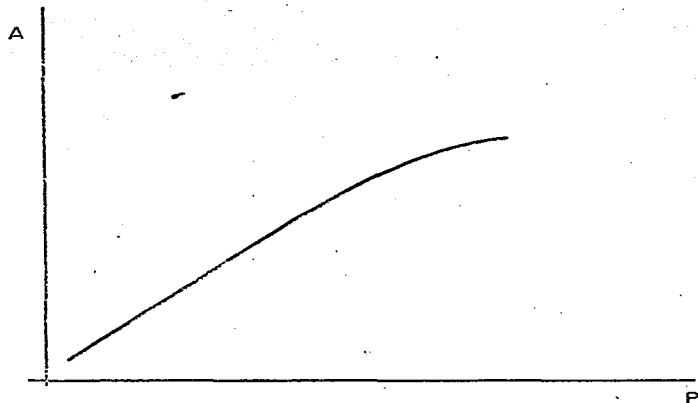
1.4.2.2.- Análisis cuantitativo.

El área bajo cada pico de un cromatograma es proporcional a la cantidad de componente que emerge de la columna. Normalmente cantidades iguales de sustancias diferentes no producen la misma respuesta, por lo que es necesario calibrarla.

Hay varios métodos de calibración como son los factores de respuesta, la calibración absoluta y la calibración indirecta. Cuando se trabaja con detectores específicos como el de captura de electrones, el método más útil es la calibración indirecta. Este método consiste en preparar mezclas de la sustancia que se va a determinar y de una sustancia que no está contenida en el problema y que se utiliza como referencia; es conveniente que ésta tenga una estructura similar a la del problema. Estas mezclas se inyectan en el sistema cromatográfico, se calculan las áreas de cada uno de los picos y se traza una gráfica del cociente del área del problema entre el área de la referencia, contra el cociente de los pesos (Fig. 1.4-VI).

Una vez obtenida esta gráfica, se añade una cantidad conocida del compuesto de referencia a la mezcla que se va a analizar y se inyecta al sistema. Del cromatograma se calculan las áreas y su cocoeficiente; por interpolación en la curva de calibración se obtiene el cocoeficiente de los pesos y de ahí, por un cálculo sencillo, la concentración de la sustancia problema.

CALIBRACION INDIRECTA



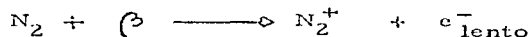
$$A = \frac{\text{Area del problema}}{\text{Area de la referencia}}$$

$$P = \frac{\text{Peso del problema}}{\text{Peso de la referencia}}$$

FIG. 1.4 -VI

1.4.3.- Detector de captura de electrones.

Es un detector de ionización cuyo principio de operación consiste en hacer pasar el efluente de la columna por un espacio donde hay una diferencia de potencial entre dos electrodos y una fuente de ionización. La fuente es una lámina de aluminio donde se ha depositado, al vacío, titanio metálico ocluido con tritio. Este irradia partículas β , con una energía de 0.018 Mev., que ionizan las moléculas de N_2 liberando electrones lentos:



Los electrones liberados van hacia el ánodo, bajo un voltaje determinado, y allí secolectan produciendo una corriente estable. Si junto con el gas de arrastre se eluye alguna sustancia que absorba electrones, esta corriente se reduce:



La pérdida de corriente es una medida de la afinidad electrónica y de la cantidad de dicha sustancia.

Este detector es muy sensible a cierto tipo de moléculas como haluros de alquilo, carbonilos conjugados, nitrilos, nitratos y organometálicos; pero es virtualmente insensible a hidrocarburos, alcoholes y cetonas.

La cantidad mínima detectable es del orden de 10^{-7} ug con sensibilidad de respuesta variable y poco estable a los cambios de temperatura y de flujo (20).

2.- PARTE EXPERIMENTAL

2.1.- Desarrollo del método.

2.1.1.- Extracción.

En un principio, se ensayó la técnica de extracción como la reporta Richardson (18); sin embargo en extracciones repetidas de una misma muestra se encontraron diferencias que se evidenciaban simplemente comparando el color después de la saponificación y que se confirmaban con los resultados cromatográficos. El problema se solucionó manteniendo una agitación continua durante la saponificación y aumentando el tiempo de reacción de 15 a 20 minutos. Con estas modificaciones los resultados de las extracciones repetidas de una misma muestra ya se podían considerar iguales. Así, se pensó que es suficiente efectuar dos extracciones y si los resultados entre ellas presentan diferencias notables, se realizan otras dos.

2.1.2.- Análisis.

Cuando se intenta un análisis por cromatografía en fase vapor, la selección de la columna es un problema en el que se debe poner especial interés, pues cuando la columna no es la adecuada, los resultados pierden confianza.

De los líquidos de partición que se han utilizado en la resolu

ción de mezclas de pesticidas (10, 11, 17 y 18), se seleccionaron dos de ellos: el SE-30 y el QF-1 (Fig. 2.1-I). Se prepararon las columnas respectivas de forma que la de SE-30 quedase al 5% y la de QF-1 al 2.5%. Aunque se recomienda que las columnas sean de vidrio, éstas se hicieron de acero inoxidable. El peligro de usar metal es que puede actuar como catalizador en la descomposición térmica de algunas sustancias, disminuyendo así la recuperación, lo que provoca una disminución en la sensibilidad.

En ambas columnas se inyectó una mezcla de los insecticidas clorados que emergen inmediatos al DDE, en concentraciones de alrededor de 1 mg/l; la prueba se hizo a cinco temperaturas distintas: 170, 175, 180, 185 y 190°C. El flujo del N₂ se estableció tratando de que la sensibilidad del detector no fuera demasiado baja y que la dispersión del pico de DDE no fuera mayor de un minuto, por supuesto, también se le prestó atención al tiempo de análisis, para que éste no fuera demasiado grande.

El análisis cualitativo se hizo utilizando la técnica del tiempo de retención ajustado al frente del disolvente, que en este caso fue hexano.

Para el análisis cuantitativo se utilizó la calibración indirecta; primero se elaboró una curva de calibración empleando Lindano como referencia interna; este compuesto se seleccionó porque se descompone durante la saponificación y así se tiene la seguridad de

ESTRUCTURAS DE LOS LIQUIDOS DE PARTICION

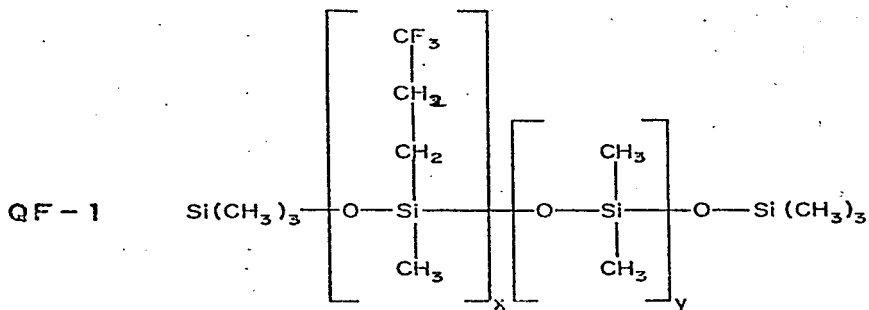
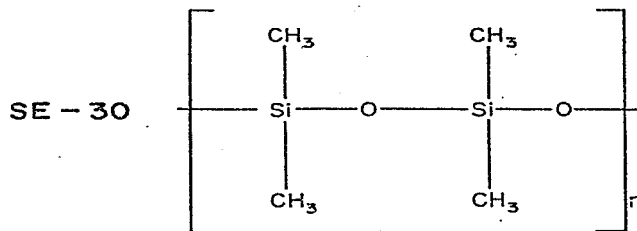


FIG. 2.1-I

que no está presente en el extracto. Sin embargo, fue necesario -- desecharlo porque sale demasiado próximo al disolvente y hay interacción entre ellos, de forma que las inyecciones no tienen la reproducibilidad necesaria. La segunda sustancia que se usó como referencia interna fue el Dieldrin que sale inmediatamente después del DDE y su co efi cientemente separado del disolvente, evitándose así el efecto de -- arrastre. Como existe la posibilidad de que en el extracto haya Dieldrin presente es necesario efectuar una inyección antes de agregar la referencia interna, para cerciorarse de que esa sustancia no está pre se nte o lo está en cantidades suficientemente pequeñas, de tal manera que no afecta el cuanteo. Con el Dieldrin se trazó una curva de calibración, utilizando el cociente de las alturas de los picos del DDE y de la referencia interna contra el cociente de los pesos. A pesar de que las inyecciones ya eran más reproducibles, el coeficiente de variación to da vía era demasiado alto; en algunos casos de más de 20 %. Para co r r e g i r este problema se utilizaron las áreas en lugar de las alturas - de los picos, así, el coeficiente de variación se redujo a la mitad.

Para determinar la cantidad de DDE en las muestras de leche, se efectuaron 3 o 4 inyecciones de cada uno de los extractos y se tomó el valor promedio del cociente de las áreas; la confiabilidad del resu l t a d o o b t e n i d o se estimó con el intervalo de confianza de 95 % de probabilidad.

2.1.3.- Eficiencia del método.

Para determinar la eficiencia del método, se analizaron dos - muestras y se determinó la concentración de DDT en ellas; a éstas - dos mismas muestras se les agregó una cantidad determinada de DDT, se extrajeron y se analizaron nuevamente y el dato con que se calculó la eficiencia fue el resultado obtenido con las muestras contaminadas en el laboratorio, menos el de antes de contaminarlas.

2.2.- Procedimiento.

2.2.1.- Extracción.

Material utilizado:

a) Recipiente de reacción-extracción; se describe en la figura 2.2-I, con él se pueden llevar a cabo la saponificación y la extracción sin necesidad de transvasar.

b) Agitador magnético.

c) Balanza.

d) Matraz Erlen Meyer graduado de 25 ml.

e) Baño de agua caliente.

f) Baño de agua fría.

g) Pipetas volumétricas de 10 y 20 ml.

h) Matraz volumétrico de 10 ml.

i) KOH grado reactivo analítico.

j) Etanol absoluto

RECIPIENTE DE REACCION-EXTRACCION

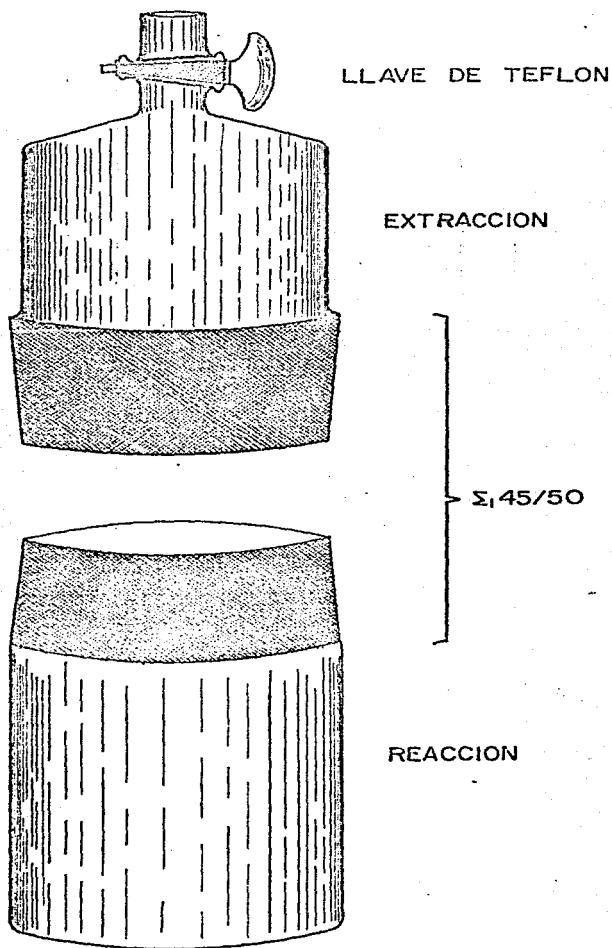


FIG. 2. 2.-I

k) Hexano puro y redestilado.

l) Agua destilada.

Tanto los disolventes como la referencia interna deben estar puros de acuerdo al análisis cromatográfico con el detector de captura de electrones y a las condiciones de operación.

Técnica:

a) Pesar 10 g. de leche en el recipiente de reacción.

b) Añadir 20 ml. de una solución de KOH recién preparada de la siguiente manera: 5 g. de KOH se disuelven en 3 ml. de agua y se diluyen a 20 ml. con etanol absoluto.

c) Poner la mezcla de reacción en un baño de agua a 65 C -- agitando constantemente durante 20 minutos.

d) Agregar 20 ml. de agua destilada y mezclar eficientemente; al agregar el agua se debe lavar el agitador.

e) Enfriar hasta temperatura ambiente.

f) Añadir 10 ml. de hexano tomados con una pipeta volumétrica; en esta operación también se debe lavar el agitador.

g) Unir el recipiente de reacción con la parte de extracción y agitar durante 4 minutos.

h) Descartar la fase acuosa.

i) Recibir la fase de hexano en un matraz aforado de 10 ml.

j) Adicionar la sustancia de referencia y aforar.

2.2.2.- Sistema cromatográfico.

Se debe disponer de un equipo de cromatografía en fase vapor con detector de captura de electrones y con un registrador potenciométrico. En este caso en especial se utilizó uno de los equipos de la División de Estudios Superiores de la Facultad de Química, que es un aparato comercial Varian Aerograph modelo 2100 y un registrador de la misma marca modelo A-25 con una entrada de 1 mV. y una velocidad de la carta de 9.25 pgd./hora.

La columna es de acero inoxidable, de 3 mm. de diámetro y 1.5 m. de longitud y está empacada con QF-1 al 2.5% sobre Chromo sorb W AW DMCS de 60/80 mallas.

Las condiciones de operación fueron:

Gas acarreador.- Nitrogeno con un flujo de 40 ml./min.

Temperaturas.- Inyector: 200 C; columna: isotérmica a -- 180 C; detector: 190 C.

El empaque se preparó de la siguiente manera:

a) Se pesaron 0.1 g. del líquido de partición y 4 g. del soporte sólido.

b) El líquido de partición se disolvió en 25 ml. de cloroformo.

c) La solución y el soporte sólido se mezclaron en un matraz redondo de boca esmerilada 24/40.

d) El matraz se puso en un rotavapor para evaporar el cloro-

formo, teniendo cuidado de que girará suavemente para lograr una distribución uniforme del líquido de partición sobre el soporte.

e) El empaque seco se colocó en una charola, en una estufa a 100 C durante 18 horas.

f) Con el empaque así preparado se llenó la columna vibrándola suave y continuamente hasta lograr un llenado uniforme.

g) La columna ya empacada se estabilizó durante tres días a 225 C con un flujo de N_2 de aproximadamente 40 ml/min.

2.2.3.- Análisis cualitativo.

Para identificar el DDE se utilizó el promedio de los tiempos de retención ajustados (en mm), de los cromatogramas obtenidos -- para la curva de calibración. La identificación se consideró positiva cuando, el valor en el cromatograma de la muestra correspondía con una exactitud de por lo menos 97%.

2.2.4.- Análisis cuantitativo.

Para trazar la curva de calibración se prepararon las soluciones indicadas en la tabla 2.2-1. Para ello se partió de otras dos soluciones más concentradas de DDE en hexano; una de 0.75 mg/l y -- otra de 0.912 mg/l. Con la primera se prepararon las marcadas como CC-1, CC-2, CC-3 y CC-5 y con la segunda las demás. A cada matraz se le añadió, antes de aforar, un ml. de una solución de Diol

TABLA 2.2-I SOLUCIONES PARA LA CURVA DE CALIBRACION

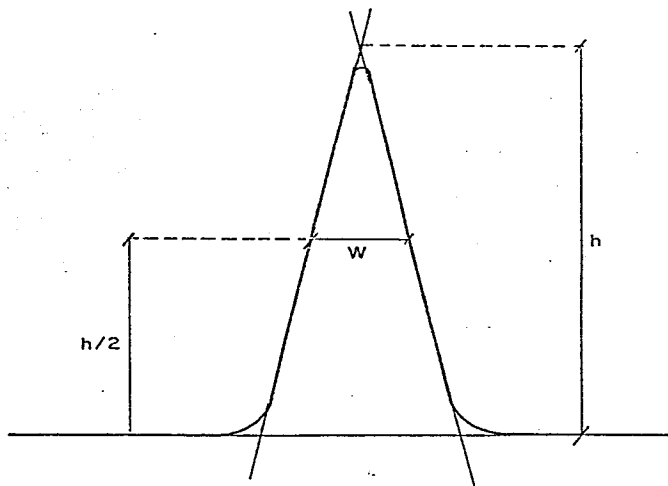
SOLUCION	CONCENTRACION DDE EN mg/l	CONCENTRACION DE DIELDRIN EN mg/l
CC-1	7.5×10^{-3}	0.3
CC-2	15.0 "	"
CC-3	37.5 "	"
CC-4	45.6 "	"
CC-5	75.0 "	"
CC-6	91.2 "	"
CC-7	182.4 "	"
CC-8	273.6 "	"
CC-9	456.0 "	"

drin de 3 mg/l. de forma que, como los matraces eran de 10 ml, la concentración en la solución final fuera de 0.3 mg/l.

Una vez preparadas las soluciones, de cada una de ellas se hicieron de 5 a 7 inyecciones de 1 μ l. En los cromatogramas obtenidos se calcularon las áreas del DDE y del Dieldrin, midiendo la altura (en mm.) y multiplicándola por el ancho del pico (en mm.) a la mitad de la altura (Fig. 2.2-II). Con estos datos se calculó el cociente de las áreas del DDE entre la del Dieldrin y se trazó la gráfica de esta relación contra la relación de los pesos. También con estos datos se obtuvo la ecuación del polinomio que ajusta mejor.

Para cuantiar el DDE en las muestras, al extracto obtenido se le agregó 1 ml. de la solución de Dieldrin aforando después con hexano a 10 ml. . De esta solución, dos por cada muestra, se hicieron tres inyecciones y la concentración se calculó con la ecuación de la curva de calibración.

CALCULO DE AREA POR TRIANGULACION



$$\text{Area} = A = W \times h$$

h = Altura desde la
línea base

$h/2$ = Mitad de la altura

W = Ancho del pico a la
mitad de la altura

FIG. 2.2 - II

3.- RESULTADOS

3.1.- Separación Cromatográfica.

La resolución de los insecticidas clorados que emergen cercanos al DDE es bastante buena, como se puede ver en la figura - - 3.1-I, donde se muestra el cromatograma de una mezcla de Lindano, Aldrin, DDE y Dieldrin en concentraciones de aproximadamente - - 1 mg/l. Los tiempos de retención ajustados al frente del disolvente son los que se indican en la tabla 3.1-I. La eficiencia de la columna es de 484 platos, lo que significa que la altura equivalente a un - plato teórico es de 0.31 cm.

La resolución entre el DDE y el Aldrin, que emerge inmediatamente antes, es de 3.4; esto significa que la separación es completa. Entre el DDE y el Dieldrin que emerge inmediatamente después es de 2.27, o sea que también se separan un 100 %.

3.2.- Análisis cualitativo.

El tiempo de retención ajustado al frente del disolvente fue - de 4.16 minutos (16 mm.) en los 56 cromatogramas de la curva de calibración.

Los picos identificados como DDE en los cromatogramas de las muestras correspondieron con el valor de 16 mm., en el tiempo

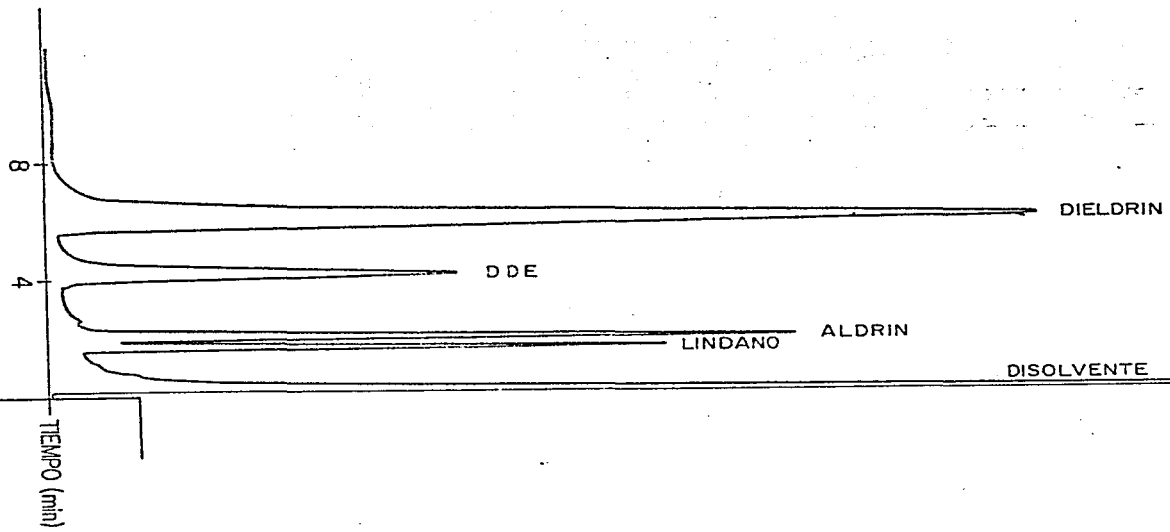


FIG. 3.1-I

TABLA 3.1-I TIEMPOS DE RETENCION AJUSTADOS

SUSTANCIA	TIEMPO DE RETENCION (t'_R)	
	mm.	min.
Lindano	6.0	1.6
Aldrin	7.5	1.92
DDE	16.0	4.16
Dieldrin	23.5	6.08

de retención ajustado, con una exactitud de más de 97 %; esto significa que la diferencia en ningún caso fue mayor de 0.5 mm.

3.3.- Análisis cuantitativo.

La curva de calibración se ilustra en la figura 3.3-I, en la que los puntos representados corresponden al valor medio de los cocientes de las áreas. La tabla 3.3-I es el resumen de los resultados, que están en el anexo I; a éstos, se les ajustó un polinomio por el método de los mínimos cuadrados con un criterio de variancia de 0.0001; la ecuación obtenida fue:

$$A = -0.18851 P^2 + 0.64460 P + 0.00714$$

donde: A es el cociente del área del DDE entre el área del Dieldrin.

P es el cociente del peso del DDE entre el peso del Dieldrin.

poniendo en forma explícita el cociente de los pesos:

$$P = 1.70977 - \frac{(0.42097 - 0.75402 A)^{1/2}}{0.37701}$$

Ya que en todas las muestras el peso de leche fue el mismo:

10 g., la cantidad de Dieldrin agregada también fue la misma: - - -

3×10^{-3} mg., se estableció la siguiente ecuación para calcular la concentración de DDT:

$$\text{DDT (mg/kg)} = 0.57181 - (0.33126 - 0.59333 A)^{1/2}$$

El resumen de los resultados del muestreo semanal de cua--

CURVA DE CALIBRACION

$$A = -0.18851 P^2 + 0.64460 P + 0.00714$$

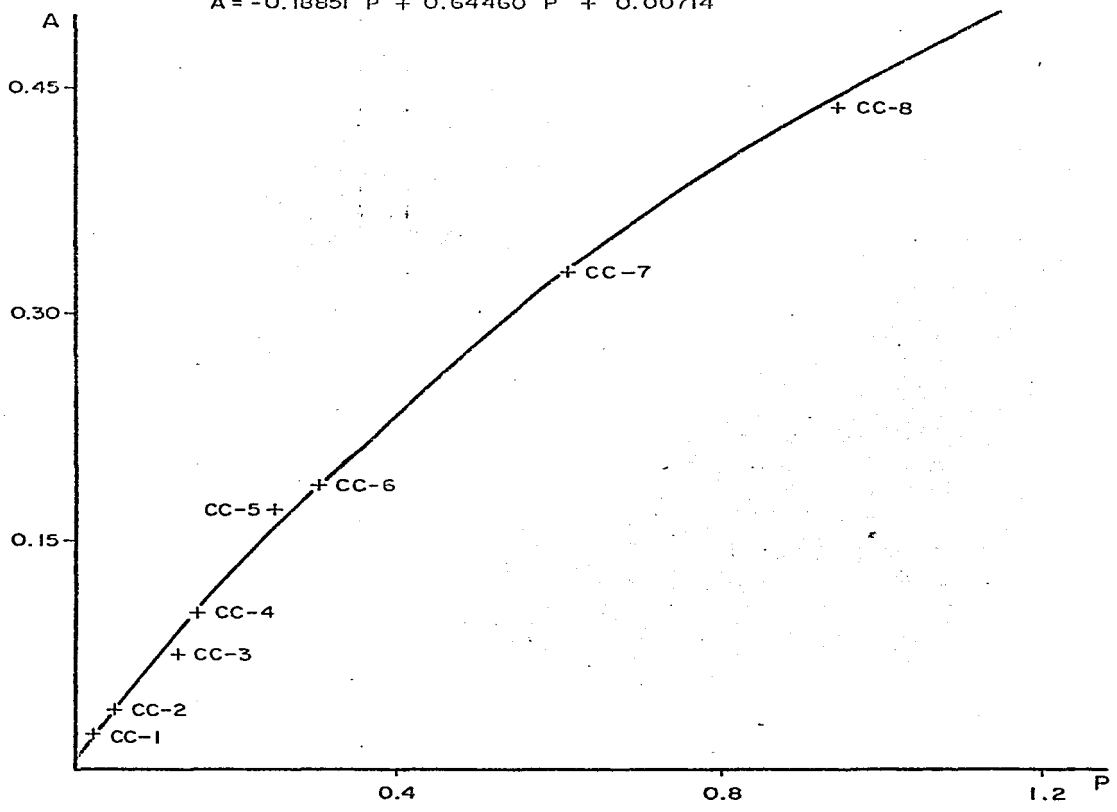


FIG. 33-I

TABLA 3.3-I CURVA DE CALIBRACION

Solucion	P	\bar{A}	Grados de Libert.	Intervalo de Conf. de 95 %	
				absoluto \pm	% \pm
CC-1	0.0250	0.0215	5	0.0013	6.05
CC-2	0.0500	0.0394	5	0.0026	6.60
CC-3	0.1250	0.0751	6	0.0012	1.60
CC-4	0.1520	0.1026	5	0.0038	3.70
CC-5	0.2500	0.1711	5	0.0027	1.58
CC-6	0.3040	0.1870	6	0.0019	1.02
CC-7	0.6080	0.3249	5	0.0054	1.66
CC-8	0.9120	0.4363	5	0.0013	0.30
CC-9	1.5200	0.5523	6	0.0036	0.65

tro marcas de leche está en la tabla 3.3-II; las concentraciones no han sido corregidas por la eficiencia del método. Los detalles de cada una de las muestras están en el anexo II.

3.4.- Eficiencia del método.

La eficiencia se determinó contaminando dos muestras de leche con una cantidad conocida de DDT, a una se le añadió 0.25 mg/kg y a la otra 0.125 mg/kg, obteniéndose eficiencias de 89.88 % y 88.24% respectivamente; los datos completos de esta determinación están en el anexo III.

TABLA 3.3-II MUESTREO

Muestra	Semana	\bar{A}	Intervalo de Conf. 95%		Grados de Libert.	Concentración DDT (mg/kg)
			absoluto \pm	% \pm		
A	1	0.0192	0.0017	8.85	6	0.0062
	2	0.0205	0.0005	2.64	7	0.0068
	3	0.0372	0.0018	4.80	5	0.0157
	4	0.0201	0.0008	3.94	6	0.0067
B	1	0.2732	0.0066	2.43	4	0.1605
	2	0.0410	0.0010	2.48	5	0.0178
	3	0.0876	0.0077	8.80	4	0.0414
	4	0.0286	0.0010	3.57	5	0.0112
C	1	0.0276	0.0020	7.39	5	0.0107
	2	0.0271	0.0028	10.35	5	0.0104
	3	0.0387	0.0015	3.95	5	0.0166
	4	0.0317	0.0015	4.73	5	0.0127
D	1	0.3639	0.0108	2.96	5	0.2323
	2	0.4556	0.0051	1.12	7	0.3050
	3	0.3956	0.0038	0.97	5	0.2612
	4	0.4107	0.0170	4.13	5	0.2759

4. - CONCLUSIONES

1.- Método de análisis.

a) Extracción.

1.- El sistema de extracción es rápido (20 minutos), económico en los reactivos y es posible efectuar varias extracciones simultáneamente.

2.- Aunque no se hicieron pruebas para determinar explícitamente la reproducibilidad de la extracción, de los resultados por duplicado de cada muestra se puede inferir que es buena.

3.- La única desventaja es que los pesticidas que como el Lindano se descomponen con el tratamiento alcalino no se pueden de terminar.

b) Sistema cromatográfico.

1.- Es eficiente para la resolución de Lindano, Aldrin, DDE y Dieldrin en un tiempo razonable (menos de 10 minutos).

2.- El uso de la columna de metal tiene ventajas en la economía y la manipulación, pero la recuperación es menor que con columnas de vidrio; para concentraciones inferiores a 0.005 mg/kg puede ser imprescindible el uso de columnas de vidrio.

c) Análisis cualitativo.

1.- El tiempo de retención ajustado al frente del disolvente es suficiente para la identificación; en ningún caso de los cromatogramas de la curva de calibración y de las muestras hubo una diferencia apreciable.

d) Análisis cuantitativo.

1.- Es imprescindible utilizar el cociente de las áreas en la curva de calibración; de no ser así, la variación de los resultados de los cromatogramas de una misma muestra es demasiado grande.

2.- El Dieldrin como referencia interna es apropiado, pero si la muestra lo contiene es necesario cambiar de referencia y preparar una nueva curva de calibración.

3.- El intervalo de confianza en las concentraciones más bajas se puede reducir, disminuyendo la atenuación de la señal que entra al graficador, de manera que el pico de DDE en el cromatograma sea más grande, reduciendo así el error relativo que se comete al medir el área.

e) Eficiencia.

1.- Aun cuando la recuperación con el uso de columnas de metal es menor que con columnas de vidrio y ningún sistema de extracción es eficiente en un 100 %, la eficiencia del método, de casi 90 %, lo hace recomendable para determinaciones cuantitativas.

II. - Muestreo.

El objetivo del muestreo era exclusivamente comprobar la viabilidad del método de análisis, y por eso la población muestreada es tan pequeña. Sin embargo los resultados permiten hacer algunas conclusiones sobre la magnitud del problema:

1. - De las 16 muestras analizadas, 5 (el 31.2 %) están por encima del límite de 0.05 mg/kg (ver sección 1.1); estos resultados son lo suficientemente alarmantes, como para iniciar una serie de estudios que vayan desde el establecimiento de las técnicas más adecuadas para el análisis de pesticidas residuales en los alimentos de mayor consumo, hasta la obtención de datos que nos permitan localizar los casos más agudos.

2. - De esas 5 muestras con un grado de contaminación alto, 4 son de una misma marca, así se puede sospechar que en cada caso haya zonas donde el problema sea más grave y los estudios que se inicien deben estar orientados a fijar estas zonas e investigar allí las causas de la contaminación y tomar, lo antes posible, las medidas pertinentes.

ANEXO I

CURVA DE CALIBRACION

DATOS:

SOLUCION:	CC-1	VOLUMEN:	10 ml
DISOLVENTE:	Hexano	VOL. INY.:	1 μ l
PESO DDE:	7.5×10^{-5} mg	CONC. DDE:	7.5×10^{-3} mg/l
PESO DIEDL.:	3×10^{-3} mg	CONC. DIEDL.:	0.3 mg/l
COC. PESOS (P):	0.0250	SENSIBILIDAD:	$\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

INY. #	A	INY. #	A
1	0.0194	4	0.0204
2	0.0229	5	0.0222
3	0.0222	6	0.0219

\bar{A} : 0.0215 S: 0.0013 CV: 6.05

LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0013, 6.05%

CURVA DE CALIBRACION

DATOS:

SOLUCION:	CC-2	VOLUMEN:	10 ml
DISOLVENTE:	Hexano	VOL. INY.:	1 µl
PESO DDE:	15×10^{-5} mg	CONC. DDE:	15×10^{-3} mg/l
PESO DIELD.:	3×10^{-3} mg	CONC. DIELD.:	0.3 mg/l
COC. PESOS (P):	0.0500	SENSIBILIDAD:	$\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

INY. #	A	INY.#	A
1	0.0414	4	0.0426
2	0.0388	5	0.0381
3	0.0358	6	0.0394

\bar{A} : 0.0394 S: 0.0025 CV: 6.35

LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0026 , 6.60%

CURVA DE CALIBRACION

DATOS:

SOLUCION:	CC-3	VOLUMEN:	10 ml
DISOLVENTE:	Hexano	VOL. INY.:	1 μ l
PESO DDE:	37.5×10^{-5} mg	CONC. DDE:	37.5×10^{-3} mg/l
PESO DIELD.:	3×10^{-3} mg	CONC. DIELD.:	0.3 mg/l
COC. PESOS (P):	0.1250	SENSIBILIDAD:	$\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

INY. #	A	INY. #	A
1	0.0762	5	0.0775
2	0.0738	6	0.0741
3	0.0732	7	0.0753
4	0.0754		

\bar{A} : 0.0751 S: 0.0015 CV: 2.00

LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0012, 1.60%

CURVA DE CALIBRACION

DATOS:

SOLUCION:	CC-4	VOLUMEN:	10 ml
DISOLVENTE:	Hexano	VOL. INY.:	1 μ l
PESO DDE:	45.6×10^{-5} mg	CONC. DDE:	45.6×10^{-3} mg/l
PESO DIELD.:	3×10^{-3} mg	CONC. DIELD.:	0.3 mg/l
COC. PESOS (P):	0.1520	SENSIBILIDAD:	$\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

INY. #	A	INY. #	A
1	0.1067	4	0.1023
2	0.0992	5	0.1044
3	0.0968	6	0.1059

\bar{A} : 0.1026 S: 0.0039 CV: 3.8

LIMITES DE CONFIANZA DE 95 %: 0.0012, 3.70%

CURVA DE CALIBRACION

DATOS:

SOLUCION:	CC-5	VOLUMEN:	10 ml
DISOLVENTE:	Hexano	VOL. INY.:	1 µl
PESO DDE:	75.0×10^{-5} mg	CONC. DDE:	75.0×10^{-3} mg/l
PESO DIE LD.:	3×10^{-3} mg	CONC. DIE LD.:	0.3 mg/l
COC. PESOS (P):	0.2500	SENSIBILIDAD:	$\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

INY. #	A	INY. #	A
1	0.1899	4	0.1793
2	0.1673	5	0.1630
3	0.1633	6	0.1636

\bar{A} : 0.1711 S: 0.0106 CV: 6.20
 LIMITES DE CONFIANZA DE 95 %: 0.0027, 1.58

CURVA DE CALIBRACION

DATOS:

SOLUCION:	CC-6	VOLUMEN:	10 ml
DISOLVENTE:	Hexano	VOL. INY.:	1 µl
PESO DDE:	91.2×10^{-5} mg	CONC. DDE:	91.2×10^{-3} mg/l
PESO DIELD.:	3×10^{-3} mg	CONC. DIELD.:	0.3 mg/l
COC. PESOS (P):	0.3040	SENSIBILIDAD:	$\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

INY. #	A	INY. #	A
1	0.1882	5	0.1871
2	0.1882	6	0.1879
3	0.1846	7	0.1899
4	0.1832		

\bar{A} : 0.1870 S: 0.0023 CV: 1.23

LIMITES DE CONFIANZA DE 95 %: 0.0019, 1.02 %

CURVA DE CALIBRACION

DATOS:

SOLUCION:	CC-7	VOLUMEN:	10 ml
DISOLVENTE:	Hexano	VOL. INY.:	1 µl
PESO DDE:	182.4×10^{-5} mg	CONC. DDE:	182.4×10^{-3} mg/l
PESO DIELD.:	3×10^{-3} mg	CONC. DIELD.:	0.3 mg/l
COC. PESOS (P):	0.6080	SENSIBILIDAD:	64×10^{-10}

RESULTADOS:

INY. #	A	INY. #	A
1	0.3226	4	0.3313
2	0.3214	5	0.3240
3	0.3313	6	0.3187

\bar{A} : 0.3249 S: 0.0053 CV: 1.63

LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0054 1.66

CURVA DE CALIBRACION

DATOS:

SOLUCION:	CC-8	VOLUMEN:	10 ml
DISOLVENTE:	Hexano	VOL. INY.:	1 μ l
PESO DDE:	273.6×10^{-5} mg	CONC. DDE:	273.6×10^{-3} mg/l
PESO DIELD.:	3×10^{-3} mg	CONC. DIELD.:	0.3 mg/l
COC. PESOS(P):	0.9120	SENSIBILIDAD:	$\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

INY. #	A	INY. #	A
1	0.4381	4	0.4370
2	0.4364	5	0.4358
3	0.4339	6	0.4364

\bar{A} : 0.4363 S: 0.0014 CV: 0.32
 LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0013, 0.30%

CURVA DE CALIBRACION

DATOS:

SOLUCION:	CC-9	VOLUMEN:	10 ml
DISOLVENTE:	Hexano	VOL. INY.:	1 μ l
PESO DDE:	456.0×10^{-5} mg	CONC. DDE:	456.0×10^3 mg/l
PESO DIELD.:	3×10^{-3} mg	CONC. DIELD.:	0.3 mg/l
COC. PESOS (P):	1.5200	SENSIBILIDAD:	$\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

INY. #	A	INY. #	A
1	0.5515	5	0.5507
2	0.5534	6	0.5578
3	0.5511	7	0.5560
4	0.5455		

\bar{A} : 0.5523 S: 0.0040 CV: 0.72

LIMITES DE CONFIANZA DE 95 %: 0.0036 , 0.65

ANEXO II

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: A FECHA: 1a. semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.0183	2	4	0.0173
1	2	0.0182	2	5	0.0197
1	3	0.0173	2	6	0.0221
			2	7	0.0214

\bar{A} : 0.0192 S: 0.0019 CV: 9.90

LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0017, 8.85%

CONC. DE DDT: 0.0062 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: A FECHA: 2a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Diel.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: 64×10^{-10}

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.0209	2	5	0.0200
1	2	0.0202	2	6	0.0214
1	3	0.0203	2	7	0.0199
1	4		2	8	

\bar{A} : 0.0205 S: 0.0005 CV: 2.43

LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0005, 2.64%

CONC. DE DDT: 0.0064 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: A FECHA: 3a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.0380	2	4	0.0370
1	2	0.0339	2	5	0.0365
1	3	0.0391	2	6	0.0385

\bar{A} : 0.0372 S: 0.0018 CV: 4.84

LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0018, 4.80%

CONC. DE DDT: 0.0157 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: A FECHA: 4a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.0185	2	4	0.0208
1	2	0.0202	2	5	0.0214
1	3	0.0199	2	6	0.0185
			2	7	0.0212

\bar{A} : 0.0201 S: 0.0012 CV: 5.97

LIMITES DE CONFIANZA DE 95 %: 0.0008, 3.94%

CONC. DE DDT: 0.0067 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: B FECHA: 1a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.2689	2	3	0.2692
1	2	0.2697	2	4	0.2783
			2	5	0.2800

\bar{A} : 0.2732 S: 0.0055 CV: 2.01

LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0066, 2.43%

CONC. DE DDT: 0.1605 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: B FECHA: 2a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $x 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.0411	2	4	0.0407
1	2	0.0434	2	5	0.0403
1	3	0.0400	2	6	0.0404

\bar{A} : 0.0410 S: 0.0012 CV: 2.93

LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0010, 2.48%

CONC. DE DDT: 0.0178 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: B FECHA: 3a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.0884	2	4	0.0889
1	2	0.0957	2	5	0.0882
1	3	0.0774			

\bar{A} : 0.0876 S: 0.0064 CV: 7.31

LIMITES DE CONFIANZA DE 95 %: 0.0077, 8.80 %

CONC. DE DDT: 0.0414 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: B FECHA: 4a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.0274	2	4	0.0290
1	2	0.0298	2	5	0.0278
1	3	0.0296	2	6	0.0278

\bar{A} : 0.0286 S: 0.0010 CV: 3.49

LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0010, 3.57%

CONC. DE DDT: 0.0112 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: C FECHA: 1a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.0260	2	4	0.0258
1	2	0.0258	2	5	0.0310
1	3	0.0290	2	6	0.0277

\bar{A} : 0.0276 S: 0.0021 CV: 7.61

LIMITES DE CONFIANZA DE 95 %: 0.0020, 7.39%

CONC. DE DDT: 0.0107 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: C FECHA: 2a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.0257	2	4	0.0259
1	2	0.0227	2	5	0.0296
1	3	0.0309	2	6	0.0277

\bar{A} : 0.0271 S: 0.0029 CV: 10.70

LIMITES DE CONFIANZA DE 95 %: 0.0028, 10.35 %

CONC. DE DDT: 0.0104 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: C FECHA: 3a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Diel.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.0381	2	4	0.0366
1	2	0.0414	2	5	0.0395
1	3	0.0373	2	6	0.0395

\bar{A} : 0.0387 S: 0.0017 CV: 4.39

LIMITES DE CONFIANZA DE 95 %: 0.0015, 3.95 %

CONC. DE DDT: 0.0166 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: C FECHA: 4a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: $1 \mu\text{l}$ SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.0314	2	4	0.0309
1	2	0.0300	2	5	0.0315
1	3	0.0311	2	6	0.0350

\bar{A} : 0.0317 S: 0.0017 CV: 5.36

LIMITES DE CONFIANZA DE 95 %: 0.0015, 4.73 %

CONC. DE DDT.: 0.0127 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: D FECHA: 1a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A.	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.3568	2	4	0.3758
1	2	0.3556	2	5	0.3678
1	3	0.3748	2	6	0.3523

\bar{A} : 0.3639 S: 0.0103 CV: 2.83
 LIMITES DE CONFIANZA DE 95 %: 0.0108, 2.96 %
 CONC. DE DDT: 0.2323 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: D FECHA: 2a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.4491	2	5	0.4608
1	2	0.4491	2	6	0.4536
1	3	0.4619	2	7	0.4482
1	4	0.4619	2	8	0.4605

\bar{A} : 0.4556 S: 0.0063 CV: 1.38

LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0051, 1.12%

CONC. DE DDT: 0.3050 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: D FECHA: 3a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.4019	2	4	0.3908
1	2	0.3943	2	5	0.3951
1	3	0.3977	2	6	0.3936

\bar{A} : 0.3956 S: 0.0038 CV: 0.96

LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0038, 0.97%

CONC. DE DDT: 0.2612 mg/kg

DETERMINACION DE DDT EN LECHE

DATOS:

MUESTRA: D FECHA: 4a. Semana
 PESO: 10 g No. DE EXT.: 2
 VOLUMEN DE LOS EXT.: 10 ml REF. INTERNA: 3×10^{-3} mg Dield.
 VOLUMEN DE INYECC.: 1 μ l SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

EXT. No.	INY. No.	A	EXT. No.	INY. No.	A
1	1	0.4053	2	4	0.4211
1	2	0.4391	2	5	0.4011
1	3	0.3947	2	6	0.4031

\bar{A} : 0.4107 S: 0.0164 CV: 3.9

LIMITES DE CONFIANZA DE 95%: 0.0170, 4.13%

CONC. DE DDT: 0.2759 mg/kg

ANEXO III

EFICIENCIA DE LA EXTRACCION

DATOS:

PESO DEL BLANCO: 10 g No. EXT. BLANCO: 1
 PESO DE LA MUESTRA: 10 g No. EXT. MUESTRA: 1
 VOL. DE LOS EXTS.: 10 ml DISOLVENTE: Hexano
 CONC. DDT AGR.: 0.125 mg/kg VOL. INY.: 1 µl
 REFERENCIA: 3×10^{-3} mg Diel d. SENSIBILIDAD: 64×10^{-10}

RESULTADOS:

BLANCO		MUESTRA	
INY. No.	A	INY. No.	A
1	0.0381	1	0.2317
2	0.0340	2	0.2294
3	0.0338	3	0.2301
4	0.0317	4	0.2156
5	0.0336	5	0.2089
6	0.0336	6	0.2102
\bar{A} :	0.0341	\bar{A} :	0.2210
S:	0.0021	S:	0.0106
CV:	6.16	CV:	4.80
Lim. Conf. 99%:	0.0020, 5.87%	Lim. Conf. 99%:	0.0110, 4.98%
CONC.:	0.0142	CONC.:	0.1245

EFICIENCIA: $\frac{0.1245 - 0.0142}{0.125} 100 = 88.24\%$

EFICIENCIA DE LA EXTRACCION

DATOS:

PESO DEL BLANCO: 10 g No. EXT. BLANCO: 1
 PESO DE LA MUESTRA: 10g No. EXT. MUESTRA: 1
 VOL. DE LOS EXTS.: 10 ml DISOLVENTE: Hexano
 CONG. DDT AGR.: 0.25 mg/kg VOL. INY.: 1 µl
 REFERENCIA: 3×10^{-3} mg Dield. SENSIBILIDAD: $\times 64 \times 10^{-10}$

RESULTADOS:

BLANCO		MUESTRA	
INY. No.	A	INY. No.	A
1	0.0183	1	0.3728
2	0.0182	2	0.3546
3	0.0173	3	0.3553
4	0.0173	4	0.3637
5	0.0197	5	0.3556
6	0.0221	6	0.3732
\bar{A} :	0.0192	\bar{A} :	0.3625
S:	0.0019	S:	0.0089
CV:	9.90	CV:	2.46
Lim. Conf. 99%:	0.0018, 9.38%	Lim. Conf. 99%:	0.0023, 0.63%
CONC.:	0.0062 mg/kg	CONC.:	0.2309 mg/kg

$$\text{EFICIENCIA: } \frac{0.2309 - 0.0062}{0.25} \times 100 = 89.88\%$$

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Brubaker, Sterling;
To Live on Earth. Man and his Environment in
Perspective; The Johns Hopkins Press; Baltimore,
USA, 1972.
- 2.- Memoria de la Primera Reunión Nacional sobre Pro-
blemas de la Contaminación Ambiental; México, D.
F., enero de 1973.
- 3.- Instituto Mexicano del Petróleo;
Desarrollo y Perspectivas del Sector Secundario de
la Industria Petroquímica; México, 1973.
- 4.- Stoker, H. S. and Scager, S. L.;
Environmental Chemistry. Air and Water Pollution;
Scott, Foresman and Company; USA, 1972.
- 5.- Mc Caul, J.; Environment; 13 No. 6, 2, (1971).
- 6.- Food Additives. DDT, DDE and DDD in milk an -
manufactured dairy products; Aoon. Fed. Reg.; 32,
4059, march 15, 1967.
- 7.- Mestres, R.; Santapau, Chr.; Robin, G. and Portal,
E.; Trav. Soc. Pharm. Montpellier; 24, No. 2, 148,
(1965).

- 8.- Engst, R; Knoll, R.; Nichel, B.; Nahrung; 11, No. 92, 161, (1967).
- 9.- Evans, W. H.; Analyst; 87, 569, (1962).
- 10.- Noren, K. and Westoo, G.; Acta Chemica Scandinavica; 46, No. 10, 2289, (1968).
- 11.- Bonelli, J. E.;
Pesticide Residue Analysis Handbook; Varian Aerograph; USA, 1966.
- 12.- Lovelock, J. E. and Lipsky, S. R.; J. Am. Chem. Soc.; 82, 431, (1960).
- 13.- Lovelock, J. E.; Anal. Chem.; 33, 162, (1961).
- 14.- Mills, R. A.; J. A. O. A. C.; 42, 734, (1959).
- 15.- DeFaubert Maunder, J. M.; Egan, H.; Godly, W. E.; Robert, J. and Thompson, J.; Analyst; 89, No. 1056, 168, (1964).
- 16.- Stemp, A. R.; Liska, B. J.; J. Dairy Sci.; 48, No. 7, 985, (1965).
- 17.- Schafer, L. M.; Bush, A. K. and Campbell, J. E.; -
J. Dairy Sci.; 46, No. 10, 1025, (1963).

- 18.- Richardson, L. A.; Lane, J. R.; Peeler, J. T. and
Campbell, J. E.; J. Dairy Sci.; 50, No. 7, 1073, -
(1967).
- 19.- Purnell, Howard;
Gas Chromatography; John Wiley and Sons, Inc.;
New York, 1962.
- 20.- McNair, H. M. and Bonelli, E. J.;
Basic Gas Chromatography; Varian Aerograph; USA,
1968.