



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

99

DETERMINACION DE INSECTICIDAS
ORGANOCORORADOS EN
LECHE MATERNA.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

Q U I M I C O

P R E S E N T A :

MARIA ELBA GUZMAN BUCIO



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.

TESIS 1978
N.º. ~~219~~ ~~218~~ 215
CAMA _____
PROG. _____
S. _____



A MI ESPOSO:

RAUL BARRON JIMENEZ
CON TODO MI AMOR.

A MI MADRE:

ENRIQUETA BUCIO DE GUZMAN
CON INMENSO CARIÑO Y GRATITUD,
POR SUS DESVELOS Y ENORMES SA-
CRIFICIOS.

A MIS HERMANOS:

LOURDES, MA. GUADALUPE
VIRGINIA, ROSA Y JOSE
LUIS, CON MI CARIÑO

AL PROFESOR:
ENRIQUE GARCIA GALEANO
AGRADECIENDO SU VALIOSA AYUDA Y
DIRECCION EN LA ELABORACION DE-
ESTE TRABAJO.

A LA DRA.:
BLANCA RAQUEL ORDONEZ
POR LA OPORTUNIDAD QUE
ME BRINDO DE PARTICIPAR
EN ESTE TRABAJO.

AL DR.: HUMBERTO GUERRERO
POR SU AYUDA Y CONSEJOS.

A MI GRAN AMIGA Y COMPAÑERA:
EMMA GPE. CASTELLANOS DE DIAZ
POR SU ENORME COLABORACION E
INSUSTITUIBLE AYUDA.

A TODOS MIS MAESTROS Y
AMIGOS.

AL HONORABLE JURADO.

JURADO:

Presidente, Prof.	ENRIQUE GARCIA GALEANO
Vocal "	JULIO TERAN ZAVALETA
Secretario "	JORGE MENCARINI PENICHE
1er Suplente "	FIDEL FIGUEROA MARTINEZ
2º Suplente "	ARTURO PEREZ ALONSO

Sitio donde se desarrolló el tema:

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA (PLANTEL XOCHIMILCO).

El Material utilizado, así como el asesoramiento -
tecnico fue de la Subsecretaría de Mejoramiento -
del Ambiente.

Nombre del Sustentante
MARIA ELBA GUZMAN BUCIO

Nombre del Asesor del Tema
Prof. ENRIQUE GARCIA GALEANO

I N D I C E

I.- INTRODUCCION

II.- ANTECEDENTES

III.- TECNICAS E INSTRUMENTACION

a).- ELECCION DE LA TECNICA

b).- PREPARACION DE ESTANDARES Y PRUEBAS -
PARA PUREZA DE REACTIVOS.

c).- LIMPIEZA DEL MATERIAL DE LABORATORIO.

d).- DETERMINACION DE PESTICIDAS EN LECHE-
MATERNA.

e).- CARACTERISTICAS Y PARAMETROS DEL APA-
RATO.

f).- PRECAUCIONES GENERALES

g).- METODO DE CONFIRMACION EMPLEADO.

h).- CONTROL DE CALIDAD.

IV.- CALCULOS Y RESULTADOS.

a).- CALCULOS

b).- RESULTADOS

c).- DISCUSION

V.- CONCLUSIONES

VI.- BIBLIOGRAFIA.

I N T R O D U C C I O N

La explosión demográfica ha hecho necesario aumentar los arcos de cultivo, pero algunos de los compuestos químicos usados para incrementar la producción agrícola han resultado nocivos para la integridad biológica de numerosos organismos benéficos.

Los insecticidas se han utilizado siempre para el control de plagas en el terreno agrícola. En México—según cálculos oficiales las pérdidas ocasionados por — plagas y enfermedades equivalían a más de 2,000 millones de pesos anualmente, de acuerdo con un estudio presentado por Moesehlín, S. en 1958 (1). Según cálculos efec—tuados por la ONU en relación con la cantidad de cerea—les destruidos anualmente la cifra asciende a 33 millo—nes de toneladas, cantidad con la que se podría alimen—tar a 150 millones de personas durante un año (1).

Asimismo los insecticidas han servido como una de las armas principales en la lucha contra diversas enfermedades transmitidos por vectores especialmente artrópodos; con el paludismo, la enfermedad de chagos, la fiebre amarilla, etc... Enfermedades que en los países en—vías de desarrollo como el nuestro han sido problemas de capital importancia, Ya que dependen íntimamente del medio ambiente.

La persistencia de algunos plagidas propicia su ingestión a través de los alimentos y su concentración al avanzar en la cadena alimentaria (Niveles tráficos).

Un estudio realizado en Washington D. C. en 1954, detectó DDT en todos los alimentos muestreados en los restaurantes de ese lugar. Asimismo en una revisión efectuada en 1961, se encontró que la contaminación por DDT, en la leche era casi universal (2,3).

Por otra parte, debido a la falta de precauciones en el manejo de estos productos, se han registrado varios problemas de intoxicación aguda en diversas partes del mundo; como el accidente ocurrido en la comarca lagunera durante el ciclo agrícola de 1974 en el que se presentaron casos de intoxicación aguda (por no seguir las precauciones debidas) entre los cuales hubo 4 defunciones (4). Por esto se piensa que con una mayor conciencia y una educación adecuada sobre la manipulación de estas sustancias, los accidentes se reducirán y así se podrán seguir usando estos productos que la ciencia y la tecnología han puesto a nuestra disposición para mejorar las condiciones de vida de la humanidad.

Por esto la controversia actual en el uso de los plaguicidas organoclorados no es en relación con los accidentes causados por la ingestión exagerada de estos,

sino sobre el posible problema crónico por su ingestión al organismo en cantidades muy pequeñas, que se acumulan en los tejidos, especialmente el adiposo, hecho cuya -- trascendencia se ignora aún, pero que actualmente es tema de estudio en varias partes del mundo.

Algunos países han establecido medidas drásticas en relación con el uso de los plaguicidas organoclorados, especialmente el DDT, como los Estados Unidos de América que han prohibido su uso. Para algunos científicos de ese país, esta y otras decisiones se han tomado -- precipitadamente, ya que por ejemplo, la prohibición del DDT., al parecer ha permitido que se utilicen otros insecticidas más peligrosos como los organofosforados, los arsenicales y los mercuriales, de evidente daño a la salud.

Es por esto que el objetivo de esta tesis, es realizar un estudio de los métodos existentes para determinar la concentración de los diferentes insecticidas -- organoclorados y sus metabolitos, presentes en la leche materna, con miras a elegir el más adecuado; lo cual podrá servir de base para investigaciones posteriores acerca del tema, las que nos darán mayor información con respecto a la acumulación de los plaguicidas, en el hombre, que vive en las ciudades para posteriormente poder comparar estos resultados con los obtenidos en otros lugares -- y al mismo tiempo poder conocer la variación de exposición por la situación geográfica.

II.- ANTECEDENTES

Se sabe que los insecticidas organoclorados son sustancias tóxicas de amplio espectros que contienen átomos de cloro unidos a radicales orgánicos, lo que hace que estos compuestos sean de gran resistencia a la degradación química y biológica. De tal manera que dependiendo del compuesto el grado de degradación biológica para transformar el 50% del insecticida puede variar de dos semanas a dos años (5).

La tendencia a persistir de estos plaguicidas ha originado que se acumulen y que a menudo se aprecie una respuesta tardía en algunos sistemas ecológicos.

Con respecto a los niveles de plaguicidas en el hombre se ha establecido un programa mundial de monitoreo de alimentos para establecer los límites máximos permisibles. La organización mundial de la Salud ha establecido un límite de 0.5 ppm (1.25 ppm en base grasa), para DDT en la leche de vaca (6) y un máximo admisible de ingestión diaria de 0.01 mg/kg. de peso (7). Así si un infante de 4 Kg. de peso toma 650 ml. de leche por día, la leche deberá contener menos de 0.06 ppm. de DDT total, con objeto de no exceder el ADI (límite de ingestión diaria admisible) de 0.04 mg de DDT por día (7).

Los compuestos organoclorados se caracterizan por ser muy poco solubles en agua (0.004 ppm) y muy solubles en las grasas, razón por la cual se acumulan en el tejido adiposo, tanto de los animales como del hombre, - siendo esta acumulación proporcional al contenido de grasa de cada órgano. Es por esto, que numerosas investigaciones sobre esta clase de tejido se han llevado a cabo tanto en pacientes voluntarios como en cadáveres por medio de biopsias. En 1960 Laug, Pickett y Kunze (8) reportaron al analizar 35 muestras de tejido graso humano, rangos de concentraciones para DDT de 0 a 34 ppm. Entre abril de 1963 y marzo de 1964 fueron analizadas 65 muestras de tejido adiposo perirrenal por Egan y colaboradores (9) encontrando que contenían de 0.2 a 8.5 ppm. de DDT., de trazas a 0.9 ppm de dieldrín.

Dada la dificultad para obtener este tipo de tejido, se pensó en la utilización de otros especímenes humanos tales como sangre y leche. En 1972 Finklea y su grupo de trabajo (18) en un estudio de 723 muestras de plasma de voluntarios que vivían en el condado de Charleston, Carolina del Sur, encontró p,p' -DDT y DDE en todas las muestras, DDD en el 84% dieldrín en el 63% y PCB en el 43% de los participantes del estudio.

En cuanto a los análisis de residuos de pesticidas en leche materna, el primer estudio del que se tiene noticia es el realizado por Laug (8) y colaboradores en 1951 con 32 muestras de las cuales 30 contenían DDT en valores que oscilaban de 0.0 a 0.77 ppm. con un valor

promedio de 0.14 ppm. para todas las muestras analizadas.

Durante 1961, Quinby, Amostrong y Durham, (11)- recolectaron y analizaron 10 muestras de leche humana, las cuales contenían un promedio de 0.08 ppm de DDT y 0.04 ppm de DDE en base a leche total y 3.5 ppm de DDT y 4.8 ppm en la fracción lípida. En este mismo estudio fueron recolectadas múltiples muestras de tres de las donadoras durante un período de dos a siete meses, observándose un pequeño cambio en los niveles de excreción de DDT y DDE.

En Estados Unidos en el estado de California - Wuest (12) trabajando con 7 muestras determinó los siguientes valores: DDT 0.0 0.12 ppm, y de DDE 0.0 -0.25 ppm; en el mismo año Denes (13) en un estudio realizado en Hungría con 10 muestras obtuvo para DDT los Valores de 0.0 a 0.16 ppm mínimo y máximo respectivamente.

En 1965 Egan y otros (9) reportaron sobre los resultados de una investigación llevada a cabo entre - - abril de 1963 y marzo de 1964 sobre 19 muestras de leche humana, recolectadas a partir de los bancos de leche, que todas las muestras contenían trazas de heptacloro eposido y p,p' -DDE. Los valores para DDT, BHC total, y dieldrín fueron de 0.875-0.170ppm (0.128 promedio) 0.009 0.033 (0.013 promedio) y 0.002-0.013 (0.006 promedio respectivamente. En base grase los valores para DDT total, y dieldrín fueron 0.2-8.5 ppm (3.3 promedio), de trazas-

a 0.9 ppm (0.26 promedio) respectivamente. En este mismo estudio Egan (9) encontró que los niveles en leche humana excedían a los de leche de vaca para todas las categorías probadas.

En un estudio de leche humana, leche evaporada y fórmulas preparadas para bebé recolectadas de varias regiones de Canadá durante 1967-1968, Savarys y Mc Cully (14) determinaron concentraciones significativas en leche humana para lindano, heptacloro epóxido, dieldrín - DDT total que fueron 0.139 mg/kg., para cada pesticida - En base grasa estas mismas cantidades expresadas en mg/kg fueron 0.071, 0.169, 0.284 y 5.399 respectivamente - En la leche evaporada y las fórmulas preparadas para bebé solo se encontraron trazas de lindano y algunas veces en base grasa, residuos de heptacloro epóxido, dieldrín - y DDT total, estos resultados fueron más bajos que en la leche humana por factores cuyos rangos van de 7 a 39.

Kroger en un estudio de 53 muestras de leche humana realizado en dos regiones de Pensilvania, obtuvo valores de 2.40 ppm de DDT, 0.16 ppm de heptacloro epóxido, y 0.18 ppm de lindano. Además realizó una comparación entre las madres que había alimentado solo a un bebé y aquellas quienes habían lactado a más niños encontrado que estas últimas presentaron concentraciones en la grasa de su leche menores en promedio que las primeras. Lo que lo llevó a concluir que la concentración de estos pesticidas decrece si se le proporciona un aruta - de excreción como la lactación (6).

Hacia 1965 en Rusia se analizaron 16 muestras en las que solo se determinaron concentraciones de DDT. Este trabajo fue realizado por Damaskin V. I. (15) reportando los valores más altos para DDT hasta la fecha, mínimo 1.22 ppm. y 4.88 ppm. máximo. Otro estudio de poca importancia fue el efectuado en Italia por Komitz y Castello (16) que al trabajar con dos muestras de leche obtuvieron un valor promedio de DDT de 0.055 ppm.

Así como Italia, otros países, europeos principalmente, realizaron investigaciones de este tipo, por ejemplo: Polonia en 1968, con Bronisz, H. (17) que al analizar 51 muestras obtuvo para DDT valores de 0.27 a 0.49 ppm. En 1969 en Bélgica (18) Heydricks encontró valores promedio de 0.05 y 0.07 ppm. para DDT y DDE respectivamente. En el mismo año en Rumanía Unterman W. y colaboradores (19) determinaron DDT en 100 muestras con resultados de 0.53 ppm. en promedio. Todos los valores obtenidos se dieron en relación a muestra total.

Otro de los investigadores que más ha realizado investigaciones de este tipo, es Twinstra L. G., (20) la primera en Bélgica (20) con 20 muestras en las que encontró un valor promedio para DDT de 0.130 ppm, la siguiente la efectuó en Rusia (20) al trabajador con 370 muestras reportó solo valores para dieldrín de 0.003 ppm. en promedio y una tercera investigación en Holanda (20) en el que aunque solo trabajó con 50 muestras se considera que es su estudio más completo puesto que obtuvo valores

res para DDT Total, HCH total, Dieldrín, y Heptaclo Epóxido con rangos de variación de 0.01 a 0.17 de 0.001 a 0.016, de 0.001 a 0.0107, y de 0.0003 a 0.0035 ppm de cada pesticida respectivamente. Todos en Base a muestra total.

También Savage y otros (21), reportaron residuos de pesticidas Organoclorados y PCB en leche materna, recolectados en la región rural del estado de Colorado durante 1971 a 1972. Los dos más altos niveles encontrados fueron P,P' -DDE cuyo rango fue de 19 a 386 ppb, y P,P' -DDT con rango de 7 a 109 ppb. Otros pesticidas detectadas fueron Beta-BHC, O,P' -DDT, dieldrín, heptacloro epóxido, y P,P' -DDD en rangos cuyos valores van de trazas a 38, 13, 11, 5 y 5 ppb respectivamente. Los niveles de PCB encontrados en las muestras de leche fueron de 40 a 100 ppb. En resumen, todas las muestras de leche contenían P,P' -DDT, el 87.5 por ciento contenían Beta-BHC y solo un 20 por ciento contenían PCBs.

Curley y Kimbrough estudiaron insecticidas organoclorados en plasma en mujeres embarazadas y leche en lactantes (22). Tres muestras de leche fueron tomadas de cada mujer entre los 3 y 96 días de post-parto. La concentración de los pesticidas organoclorados varió grandemente entre cada mujer, pero no así comparandolo con el rango reportado por las otras. En este estudio se cuantificaron, p,p' DDT, o,p' DDT, p,p' -DDE, y o, o, p, DDE, cuyos valores fueron: a los tres días, 0.0.01 a 0.0890 (promedio 0.041), 0.001 a 0.0072 (0.0027 promedio),

de los 37 a 60 días de 0.0078 a 0.0586 (promedio 0.0328) de 0.001 a 0.0036 (promedio 0.0012), de 0.0167 a 0.0435 (promedio 0.0247), de más de 0.0001 a 0.0022 (promedio 0.0010), y de los 90 a los 96 días de 0.0137 a 0.0306 (promedio 0.0223), de más de 0.0001 a 0.0108 (promedio 0.0037), de 0.0193 a 0.098 (promedio 0.0411), de más de 0.0001 a 0.0028 (promedio 0.0010), de cada pesticida respectivamente. Todos los resultados expresados en base a muestra total.

Como se puede ver rápidamente los residuos de pesticida son un problema de preocupación mundial. Es -
tos pueden ser detectados en todos los tejidos animales -
tanto en las regiones más remotas como en las cercanas -
al desarrollo industrial. Un buen ejemplo de ésto fue -
un estudio hecho en Nueva Guinea en 1970 por Hornabrook -
y colaboradores (23), quien recolectó 24 muestras de le -
che a partir de mujeres que voluntariamente recibieron -
asistencia en los hospitales para ellas ó para sus niños -
en las clínicas de salud. La mayoría de ellas fue ex -
puesta a grados de variación debido a las influencias -
occidental, incluyendo el rociado de insecticidas para -
combatir la malaria e incrementar la producción agrícola
En Sepik, una comunidad la cual ha tenido un programa de
control de malaria en intervalos de cada seis meses a -
partir de 1962, los niveles de p, p' -DDT, p,p' DDD y o, -
p' -DDT en ppb fueron de 95.9, 101.0, 5.47 y 8.24 respec -
tivamente. En Gorka, que fue rociada de 6 a 8 meses an -
tes de que las muestras fueran recolectadas en 1969, los
niveles para los pesticidas fueron 29.0, 68.3, 4.37 y —

7.02 ppb respectivamente. En las islas de Saidor y Karkar, las cuales tuvieron con programa para el control de la malaria y sólo presentaron un pequeño programa de rociado para incrementar la agricultura, los valores fueron mucho más bajos para p,p' -DDT y p,p' DDE, siendo de 1.66 ppb de cada uno para las islas de Karkar y 1.54 ppb y 2.10 ppb respectivamente de cada pesticida. Las últimas dos comunidades, Lobogai y Okapa, las cuales no tuvieron control de malaria pero han tenido contacto europeo por cerca de veinte años. Los niveles para p,p' DDE y p,p' DDT en Lobogai fueron de 10.25 ppb y 38.40 ppb, en cambio en Okapa los niveles fueron de 6.69 ppb y 7.65 ppb respectivamente.

Newton y Greene también condujeron un estudio sobre pesticidas organoclorados en leche materna en Victoria Australia en 1970, (24). Treinta y nueve de las muestra provenían de madres rurales y veintiocho de madres urbanas. Todas las muestras tuvieron DDT, DDE y HCB. En suma, veintinueve de las muestras contenían dieldrín (con un valor promedio de 0.007 ppm), y tres contenían ambos dieldrín y DDD. El valor promedio de DDT total fue de 0.139 ppm para las madres de procedencia rural y de 0.145 ppm para las donadoras urbanas.

Muestras de leche a partir de 22 madres que vivían en la area de Western Austria, fueron analizadas para encontrar residuos de pesticidas (25). Fueron detectados los siguientes pesticidas: DDE, 0.080 ppm. DDT,-

0.015 ppm; dieldrín 0.0005 ppm; y HCB, 0.025 ppm. Otros estudios acerca del tema han sido realizados en varias partes del mundo: Alemania-Acker y Schulte en 1971 (25), Acker y Schulte en 1970 (27), Engst y Knoll, en 1972 (28) Suecia con Westoo y Noren, en 1972 (29) Estados Unidos - Dymant y colaboradores en 1971 (30), Hagyard y otros en 1973 (31); en Polonia-Kontek y otros, 1971 (32); en Rusia, Grecheva, en 1970 (33); en Canada Larsen A y colaboradores (34) en 1971., en Japón-Takeda y otros (35), y Nishimoto y colaboradores en 1973 (35).

El único trabajo que aparece en la literatura de los países subdesarrollados (ó en vías de desarrollo), es el que fue realizado en Guatemala (38), con 46 muestras recolectadas a partir de tres comunidades rurales del sur de Guatemala. El Rosario, la Bomba, y Cerro Colorado, durante el período de junio de 1970 a enero de 1971; Este estudio fue llevado a cabo por Olzyna-Hazarys y colaboradores y con la ayuda la FAO, la OPS y en colaboración con el Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP). Los valores reportados para los pesticidas determinados fueron: DDT total de 0.342 a 1.77, HCH total de 0.001 a 0.016, dieldrín de 0.0001 0.0107, heptacloro epóxido de 0.0003 a 0.0035 ppm en base a muestra total.

El estudio más reciente y el más importante hasta la fecha es el realizado por Savage y colaboradores (38), en el centro de pesticidas de la Universidad-

de Colorado, en el que se estudió una muestra compuesta por 1436 donadoras, recolectadas en toda la Unión Americana, después de haber hecho un diseño de muestreo con relación a la población total. Obtuvo los siguientes valores: DDT Total, de 0.001 a 34.639, HCB de 0.01 a 1.444, p,p' -DDE de 0.125 a 214.166, BCH de trazas a 9,216, y -Trans-Nonaclor de 0.013 a 1.060 partes por billón todos en base a lípidos.

Una recopilación de los estudios realizados en varias partes del mundo se presenta en las tablas I y II.

TECNICAS E INSTRUMENTOS

a).- Elección de la Técnica.

Técnicas para la determinación de compuestos Organoclorados:

Existen diversos métodos para el análisis de compuestos organoclorados desde el más simple que sería - el gravimétrico (39); el cual consiste en analizar el - cloro orgánico total (presente en la muestra) transformándolo a cloro inorgánico por reducción alcohólica con sodio este método es solo para determinar el cloro total y de ninguna manera nos sirve para identificación de cada uno de los compuestos de la muestra por lo que no se considera de ninguna manera un método aprovechable para nuestro propósito.

Ahora bien, la presencia de cantidades tan pequeñas de estos compuestos (del rango de picogramos) en los extractos (de leche humana), hace necesario el uso - de técnicas analíticas ultrasensitivas para su identificación y cuantificación.

Entre los métodos más adecuados se encuentran:

- 1).- La cromatografía en capa fina.
- 2).- Espectrofotometría infrarroja.
- 3).- Espectrofotometría de masas.
- 4).- Polarografía.
- 5).- Espectrofotometría visible y de luz ultravioleta.

Describiremos ligeramente cada uno de ellos - enunciando sus ventajas además de sus inconvenientes.

La Espectrofotometría visible y de luz ultravioleta no son usados debido a la gran cantidad de pesticida requerida para su análisis.

ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

La espectroscopía de absorción infrarroja tiene gran aceptación en el análisis de residuos de pesticidas; debido a los recientes avances en instrumentación y tecnología. El grupo funcional de los pesticidas orgánicos muestra gran absorbancia a dos o más rangos de longitud de onda, entre los 2.5 y los 25 μ . Lo que produce un espectro característico de las estructuras químicas - de cada pesticida.

La identidad de un pesticida desconocido puede obtenerse comparando su aspecto con el espectro del pesticida conocido. La información cuantitativa se obtendrá por la ley de Lambert, ya que la relación concentración absorbancia generalmente sigue dicha ley.

Cuando dos o más pesticidas están presentes en concentraciones elevadas y poseen grupos funcionales similares puede haber dificultades en la interpretación cualitativa y cuantitativa del espectro, por lo que es recomendable que el espectrograma sea evaluado por personal que tenga gran experiencia en la interpretación de esta clase de espectros, preferiblemente usando cromatografía de gases ó en capa fina.

Es necesario que la muestra que va a ser analizada por espectroscopía infrarroja no contengan otros compuestos orgánicos además de los pesticidas, pues las bandas espectrales debidas a los compuestos orgánicos extraños aparecerán en el espectro además de los pesticidas, dificultando su interpretación.

Generalmente se usan dos métodos para preparar el extracto para su análisis por infrarrojo. Uno es, rociar el extracto sobre una placa solobre y evaporar el solvente por calentamiento; el otro es colocar el extracto en bromuro de potasio en polvo y preparar una microampolleta. Cuando la microampolleta es usada es neces-

sario emplear un condensador de rayo de tipo reflectante y una escala expansión, los cuales serán adaptados al espectrofotómetro de infrarrojo.

Para facilitar la interpretación de los resultados puede ser usado un método combinado de espectroscopía infrarroja y cromatografía de gases. Las fracciones de los pesticidas son recolectados por congelación o atrapados en un pequeño volumen de solvente como tetracloruro de carbono ó bien disulfuro de carbono. La solución de pesticidas es colocada en una microcelda y corrida contra un blanco usando un espectrofotómetro de doble haz. Recientemente la espectrofotometría infrarroja de rápido registro es capaz de registrar de 2.5 a 14.5 μ en 4 seg.

Entre las desventajas de este método para nuestro estudio están:

- 1).- La máxima sensibilidad de este método es ligeramente menor que la de otros, pues alcanza una sensibilidad de 100 μ g. de cada pesticida.
- 2).- Este método presenta un uso limitado ya que las cantidades de pesticida que se utilizan para este tipo de análisis son insuficientes para llevarlo a cabo.

OSCILOGRAFIA POLAROGRAFICA (39)

La oscilografía polarográfica promete mucho - como un método analítico, es rápido y sensitivo para - las fracciones de pesticidas separadas previamente por - cromatografía en capa fina ó cromatografía de gases. - Los nuevos avances en instrumentación y técnicas hace es - te tipo de polarografía un excelente método para identi - ficar pesticidas.

Pueden ser usados dos tipos de polarografía - para este tipo de análisis: La polarografía oscilográfica de multibarrido particularmente ajustada para obtener información cualitativa debido a su alta sensibilidad, - y la oscilografía de un solo barrido de rayos catódicos - que es menos sensitiva pero ha alcanzado gran reproducti - bilidad y es usado como un método de proyección general - cuando se desea información cuantitativa.

El voltaje sinusoidal ó de onda cuadrática - nos da un polarograma de tipo derivativo en el cual la - solución es mejorada (con respecto a las ondas de co - rriente directa.) El uso de la oscilografía en el análi - sis de trazas ha avanzado más que todos los otros tipos - de análisis combinados.

La oscilografía tiene una mayor resolución, -

sensitividad y es más rápida que otras formas de polarografía. La determinación de trazas de químicos orgánicos por oscilografía ha sido objeto de muchos artículos recientes (39). Grajan (40) en un artículo sobre el análisis de pesticidas por oscilografía explica éste en gran detalle.

Pesticidas tales como el DDT, metoxicloro y otros de este tipo han sido determinados polarográficamente por ambos métodos de polarografía (de corriente al terna y oscilografía).

El límite más bajo de detección fue de 5 μ g de DDT por ml. También se encontró que los compuestos con un grupo triclora fueron reducidos a grupos dicloro (incluyendo las olefinas que no son reducibles) usando métodos oscilográficos. Se determinaron picos potenciales para: p, p' -DDT, o, p-DDT, Keltano y metoxicloro, los cuales fueron 9.73, - 0.78 -0.74 y 0.78 respectivamente contra un electrodo con alambre de plata.

En general cualquier estructura molecular que contiene un grupo reducible como los pesticidas que contienen grupos nitro, carbono-halógeno, aldehído, azo, di sulfuro, olefina conjugada, etc., pueden ser perfectamente analizados por Polarografía oscilográfica ya que son polarográficamente activos.

Sin embargo para nuestro estudio fue necesario usar un método más rápido y sencillo.

ESPECTROSCOPIA DE MASAS (39).

En la actualidad se usan con excelentes resultados los métodos de análisis combinados; como la cromatografía de gases unida a la espectrofotometría de masas.

Este método es reconocido como uno de los sistemas más eficaces a disposición del químico analista para la identificación de mezclas complejas de productos orgánicos en general, no sólo de pesticidas.

Conectando la salida de un cromatógrafo de gases a la cámara de ionización de un espectrógrafo de masas se puede obtener información estructural (espectro de masas) para cada uno de los componentes de la mezcla original previamente inyectada en el cromatógrafo a medida que estos son diluidos en la columna cromatográfica; - De esta forma las limitaciones inherentes de la cromatografía de gases quedan considerablemente reducidas en el análisis cualitativo. Corroborando de esta manera los datos obtenidos de los tiempos de retención de los pesticidas (48).

La espectroscopia de masas es básicamente una técnica en la que los iones obtenidos de una sustancia orgánica se separan siguiendo su relación de masas a carga iónica dando lugar, una vez registrados en forma adecuada, al espectro de masas características de dicha sustancia.

Otra de las ventajas de ésta técnica es la que tiene un límite de detección muy alto (del rango de picogramos), lo que es excelente para el análisis de trazos como es el que aquí se trata.

El único inconveniente de éste método es el alto costo del aparato.

CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA (42)

La técnica de cromatografía en capa fina ha tenido un fuerte impacto en la química analítica, es simple y rápida, y más selectiva para una mayor variedad de separaciones que la cromatografía en papel, el gran número de absorbentes nos da una variedad de parámetros que pueden ser modificados para obtener la separación deseada.

Esta técnica analítica tiene utilidad general para el análisis de residuos de pesticidas. Las razones son:

1.- Es aplicable a la mayoría de los tipos de problemas analíticos en los cuales la cromatografía en columna, la cromatografía de gases y la electroforesis pueden ser usados.

2.- Es mucho más simple y rápida que las otras técnicas.

Algunas ventajas adicionales son su bajo costo y la rapidez para su aprendizaje.

El inconveniente más grande de este método es que es semicuantitativo y que su límite de detección no es muy alto.

Técnicas para la determinación de pesticidas en leche materna.

Debido al uso tan extendido de plaguicidas y a los problemas de contaminación que originan, se ha tenido la preocupación de encontrar el mejor método para su cuantificación.

Ciertamente desde hace algunos años y aún hoy en día se han utilizados métodos semi-cuantitativos como

los colorimétricos o los de cromatografía en capa fina;- (42) pero estos no nos dan la sensibilidad requerida para determinar estos contaminantes en pequeñas cantidades (p.p.b) que es como se encuentran en especímenes humanos.

Es por ello que al tratar de buscar un método para la determinación de estos compuestos organoclorados en leche materna se realizó una revisión bibliográfica de las técnicas que utilizan cromatografía de gases, ya que se consideró que la cromatografía de gases es el método que mayor sensibilidad y selectividad nos proporciona, así como el que estaba a nuestro alcance.

Se encontró que la mayoría de estos métodos - se basaba en tres pasos fundamentales.

- 1.- Extracción de los pesticidas de la leche.
- 2.- Limpieza de los mismos.
- 3.- Cuantificación por cromatografía de gases.

La diferencia entre cada uno de los métodos - consistía primordialmente en la fase extracción de los pesticidas de la leche; por ejemplo, el método utilizado en un estudio llevado a cabo en Guatemala (37) fue el - aprobado por el "Perrine Primate Laboratory" de la agencia de protección ambiental de los Estados Unidos con se

de en Perrine Florida. Se trata de un micrométodo en el cual se realiza directamente la extracción de los pesticidas de la leche con acetonitrilo y posteriormente la partición con hexano.

En cambio en el método descrito por Giufrida y otros (43) el cual de una recuperación del 80 a 100%, se realiza primero la extracción de la grasa de la leche, y posteriormente se extraen los pesticidas de la grasa, nuevamente con acetonitrilo.

Se encuentra también la técnica sugerida por Curley y Kimbrough (22) se trata también de un micrométodo, donde la participación de la muestra es directamente con metanol y solución al 1% de carbonato de potasio, realizandose posteriormente la extracción con hexano.

El Journal of Dairy Science (44), nos muestra otro procedimiento en el cual primero es la extracción de la grasa de la leche la que se realiza con una mezcla de propanol, fosfato triton y urea, y posteriormente la extracción de los pesticidas de la grasa, la que se realiza con acetonitrilo.

Existe un método oficial de la A O A C (45), que se basa en la extracción de la fase oleosa por medio de metanol y eter etílico, secandose en una columna-

de sulfato de sodio y se realiza por partición en columna de sulfato de sodio.

Por lo que respecta a la limpieza de los pesticidas en todos los métodos enunciados se realiza por medio de una columna de fluoril (microcolumna en caso de que se trate de un micrométodo), solo que en algunos casos se usa éter de petróleo como eluyente y en otros casos se usa hexano con etílico.

La cuantificación en todos los casos, se realiza por medio de un cromatógrafo de gases, con detector de captura de electrones de Ni^{63} usando en casi todos los casos las mismas fases para empacar las columnas una con 1.5% de ov- 17 y 1.95% ov. 210 y la otra con 4% de SE - 30 y 6% de ov - 210, sobre gas chrom Q. Con excepción de caso del perrine primate laboratorio en el cual se usó 1.5% de OV-17 /1.95 % de QF-1 sobre "Supercoport", malla 80/100 y para la segunda columna 10% de DC - 200 sobre "Cromosorb" W malla 80/100.

Aquí hay que tomar en consideración que en algunas ocasiones es difícil conseguir volúmenes de leche de más de 60 ml. lo que nos lleva a descartar el uso de ciertas técnicas como las sugeridas por Giuffrida (1966) el del Journal of Dayry Science (44) y el método oficial de AOAC (45), debido a la gran cantidad de muestra que necesitan.

Por otro lado al utilizar un micrométodo como el referido en el trabajo de Guatemala (37) ó el descrito por Kimbrough (22), existe el riesgo de obtener una mala recuperación.

Es por ello que se decidió elegir el método-
empleado por Savage y colaboradores en el estudio reali-
zado en la Unión Americana (1975) el cual es una modifi-
cación de las técnicas descritas por Giuffrida (43), y-
Curley y Kimbrough (22).

b).- Preparación de Estándares y Pruebas para pureza de reactivos.

PREPARACION DE ESTANDARES.

Los estándares utilizados fueron obtenidos de la sección de estándares de referencia de la división de pesticidas y residuos químicos de Washinton D. C. (U.S.A). Se usaron 2 clases de estándares, los estándares primarios con una pureza del 99% en adelante y los estándares técnicos son pureza de 95 al 99%.

Los pesticidas a determinar en este estudio— fueron 14 cuyas características principales se enuncian— a continuación:

Nombre Técnico.— HEXACLOROBENCENO, HCB.

Nombre Sistemático.—1,2,3,4,5,6.

Formula empírica.— C_6Cl_6

Estructura.

Hexacloro benceno

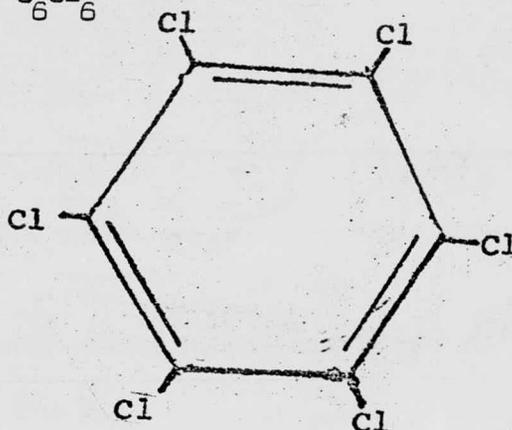
peso molecular=

284.19

Estado: Sólido

Pureza:

99.95% \pm 0.05%.



Nombre Técnico.- α -BHC, δ -HCH, ISOMERO ALFA DEL HEXA-
CLOBENCENO.

Nombre sistemático.- 1,2,3,4,5,6,-a,a,e,e,e,e,-hexacloro-
benceno.

Formula empírica.- $C_6H_6Cl_6$

Estructura.

Peso molecular. 290.83

Estado.- Sólido

Pureza = $99.9 \pm 0.05\%$

Estabilidad.- Dehidro halogenado por álcali.

Nombre técnico.- Lindano, γ -BHC.

Nombre sistemático.- 1,2,3,4,5,6, a,a,e,e,e- Hexacloro γ -
ciclohexano.

Fórmula empírica.- $C_6H_6Cl_6$

Estructura:

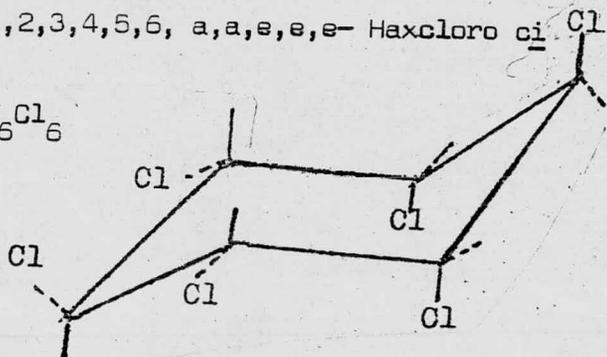
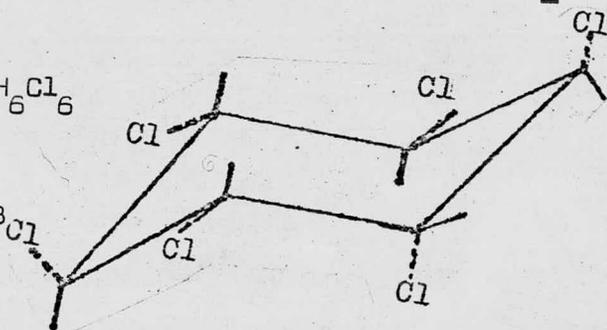
Peso molecular = 290.83

Estado: Sólido

Estabilidad.- Inestable en presencia de álcali

Pureza. = $99.9 \pm 0.05\%$

Insolubles en benceno = 0.01 %

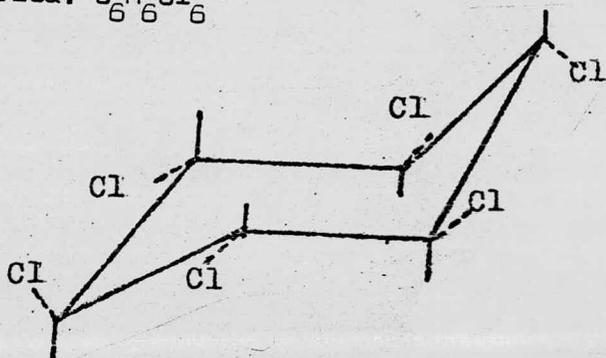


Nombre técnico.- ISOMERO β BUC; ISOMERO β HCH, ISOMERO β
DEL HEXACLORO CICLOEXANO.

Nombre sistemático.- 1,2,3,4,5,6, - e,e,e,e,e,e- hexa-
clorocicloexano

Fórmula empírica: $C_6H_6Cl_6$

Estructura.



Estabilidad: Deshidrohalogenado por álcalis

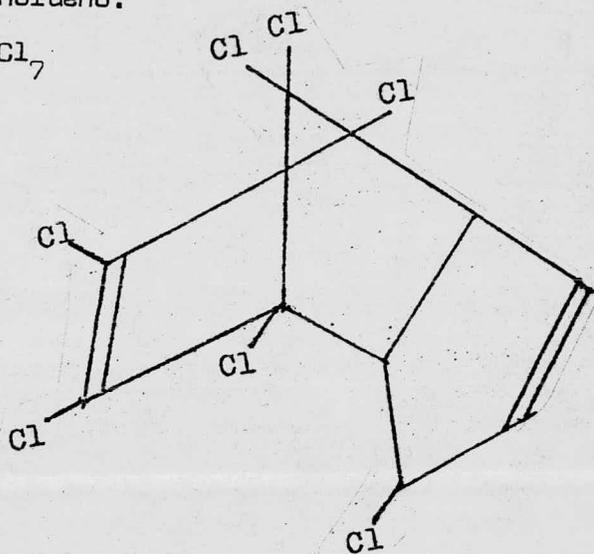
Pureza = 99%.

Nombre técnico.- HEPTACLORO

Nombre sistemático.- 1,4,5,6,7,8,8- heptacloro-3a,4,7,
7a- Tetrahydro 4,7-metanoideno.

Fórmula empírica.- $C_{10}H_5Cl_7$

Estructura:



Peso molecular: 373.34

Estado: sólido

Estabilidad.- Estable

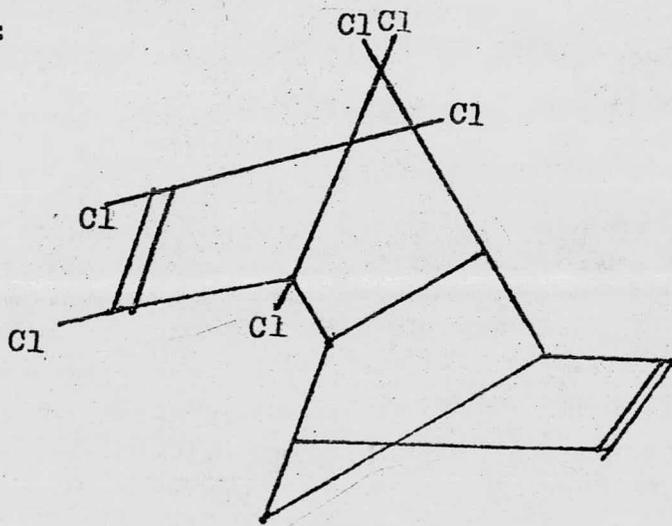
Pureza = 99.9 ± 0.01 %

Nombre NHDN, Principal componente del ALDRIN.

Nombre sistemático.- 1,2,3,4,10,10-Hexacloro benceno -
1,4,4a.5,8,8a - Hexacloro endo, 1,4-exo-5,8-dimetano -
naftaleno.

Fórmula empírica.- $C_{12}H_3Cl_6$

Estructura:



Pureza = $99.3 \pm 0.2\%$

Peso Molecular = 364.92

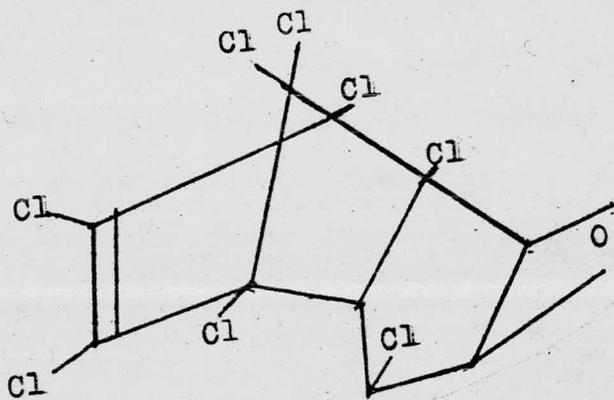
Estabilidad.- Reacciona con ácidos fuertes y agentes -
oxidantes.

Nombre.- OCTACLORO EPOXIDO, OXICLORDANO.

Nombre sistemático.- 1 - exo 2- endo-4,5,6,7,8,8- octa
cloro - 2,3-epoxi. 2,3,3a,4,7,7a-hexahidro-4,7-metanoi
deno.

Fórmula empírica.- $C_{10}H_4Cl_8O$.

Estructura:



Peso molecular = 423.77

Estado.- Sólido

Estabilidad.- Inestable en álcalis.

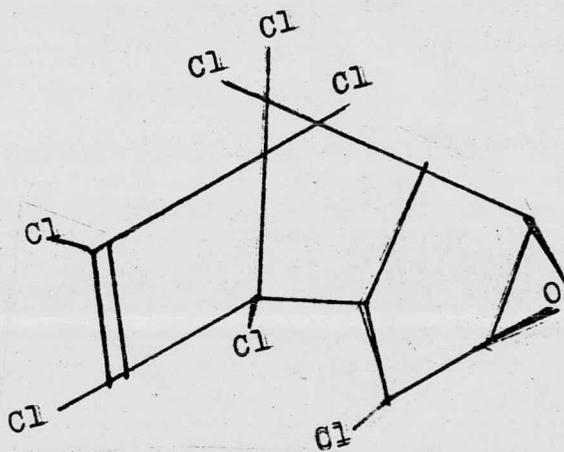
Pureza = 98%

Nombre Técnico.- HEPTACLORO EPOXIDO.

Nombre sistemático.- 1,4,5,6,7,8,8-heptacloro -2,3-epo
xi-3a,4,7,7a-tetrahydro 4,7-endo-metanoideno.

Fórmula empírica.- $C_{10}H_5Cl_7O$.

Estructura:



Peso molecular = 389.32

Estado.- Sólido

Estabilidad.- Estable

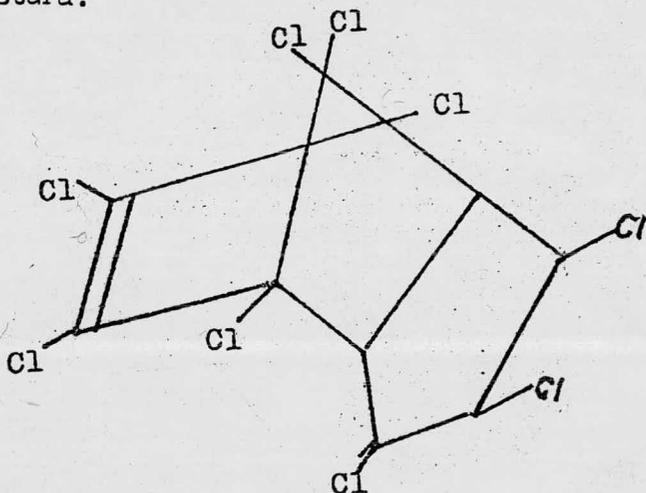
Pureza = 99.4

Nombre técnico.- TRANS-NONAQLOR, ENNEAQLOR.

Nombre sistemático.- 1,2,3,4,5,6,7,8,8-nonacloro-3a,4,7,7a-tetrahydro 4,7-ando-metanooidano.

Fórmula empírica- $C_{10}H_5Cl_9$

Estructura:



Peso molecular = 444,23

Estado.- Sólido

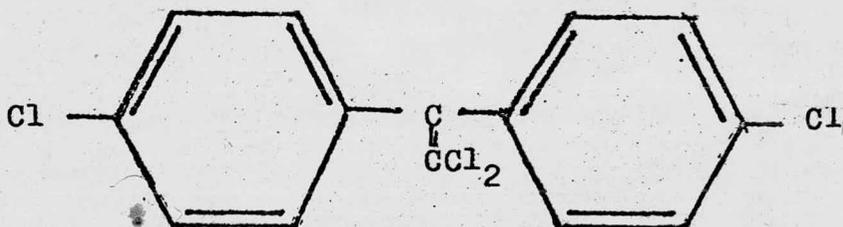
Estabilidad.- Inestable en álcali

Pureza = 99.5%

Nombre técnico.- P,P' -DDE, OLEFINA DEL P,P' -DDT.

Fórmula empírica: $C_{14}H_8Cl_4$

Estructura:



Peso molecular = 318.02

Estado.- Sólido

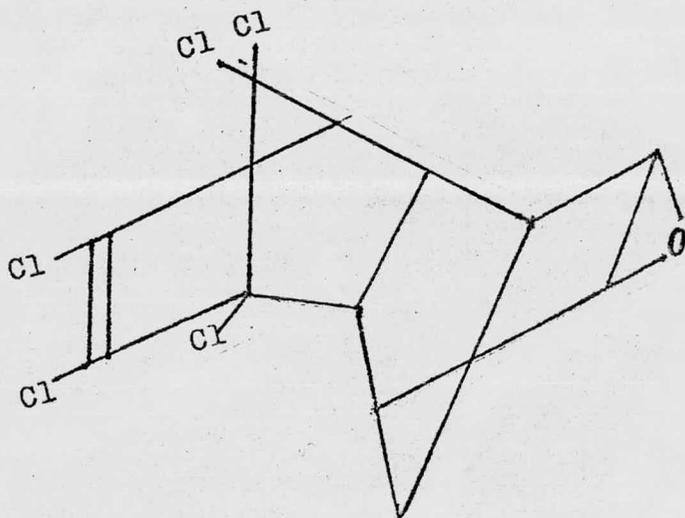
Pureza = 99.9 10.05%

Nombre técnico.- DIELDRIN, HEOD, Principal componente del DIELDRIN TECNICO.

Nombre sistemático.- 1,2,3,4,10,10-hexacloro 5,7-epoxi 14,4a,5,6,7,8,9a-octahidro-1,4-endo, exo, 8-dimetano - naftaleno.

Fórmula empírica.- $C_{12}H_8Cl_6$

Estructura:



Peso molecular = 380.92

Estado,- Sólido.

Estabilidad.- Inestable a la luz.

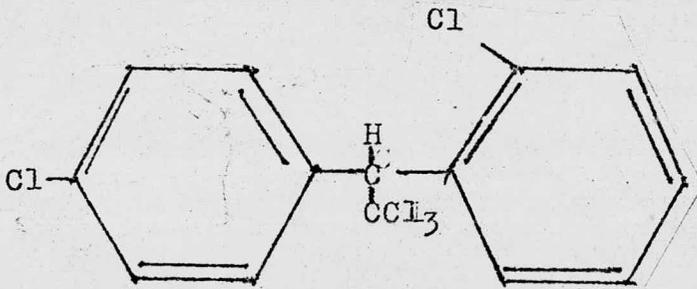
Pureza.= 99.7-0.2%

Nombre técnico.- O,P' -DDT (ORTO PARA DDT).

Nombre sistemático.- 1,1,1-tricloro-2-(oxclorofenil) -
2-(p.-clorofenil). etano.

Fórmula empírica.- $C_{14}H_9Cl_5$

Estructura:



Peso molecular = 354,49

Estado.- Sólido.

Estabilidad.- estable excepto en álcalis.

Pureza^a. = 99.7 0.2

Nombre técnico.- P,P' -TDE, P,P' -DDD, ROTANO

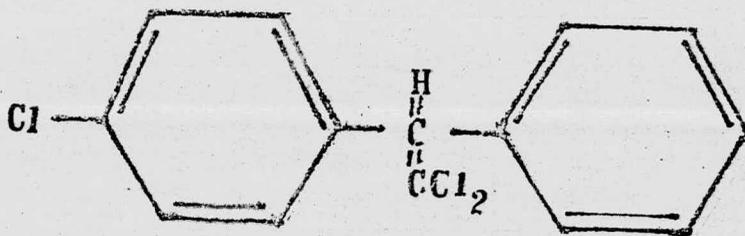
Nombre sistemático.- 2,2-bis(p-clorofenil)-1,1-dicloro -
roetano.

Fórmula empírica: $C_{14}H_{10}Cl_4$

Peso molecular - 320.05

Estado: sólido

Estructura:



Estabilidad: Dehidroclorado por álcali.

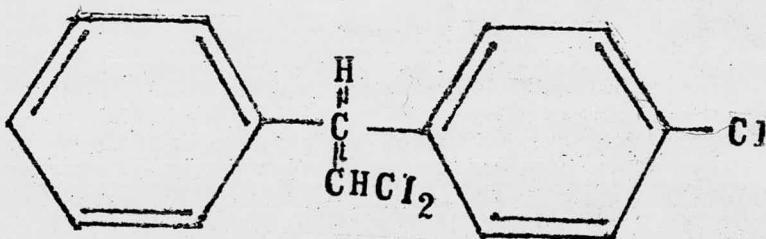
Pureza.-99..3 ± 0.2%

Nombre técnico P,P' DDT (PARA DDT)

Nombre sistemático: 1,1,1-tricloro 2-2-bis, (p-cloro - fenil) etano.

Formula empírica: $C_{16}H_9Cl_5$

Estructura:



Estabilidad.- Inestable en álcali y cuando es calentado arriba de su punto de fusión.

Pureza.= 99.9 ± 0.1%

PREPARACION DE LAS SOLUCIONES DE LOS ESTANDARES

Quando estuvo el solvente probado se procedió a las preparaciones de las colusiones de los estándares; para lo cual se pesaron 10 mg de cada uno de los 13 pesticidas a determinar y se diluyeron con hexano, haciéndose las diluciones necesarias para obtener soluciones con concentraciones de 100 y 10 ng/ul. 10 ng.

(10,000.000ng)

10 mg se aforó a 100 ml (100,000 ng/ml)
 (100,000 ng) 1 ml se aforó a 100 ml (1000 ng/ml)
 (1000 ng/ml) 1 ml se aforó a 100 ml (10ng/ml)
 10 ng/ml = 10 pg/ul

De la solución de 1,000 ng/ml se tomaron 10 - ml y se aforaron a 100 ml obteniéndose una solución de -- 100 ng/ml.

OBSERVACION: Debido a que el Beta-BHC fue difícil de disolver en hexano, se disolvió primero en acetato y etilo y posteriormente se aforó con hexano, realizándose todas las diluciones subsecuentes en este mismo - solvente.

Con estas soluciones se preparó una mezcla, - que se usó para el control de calidad interno. Esta - mezcla se denominó mezcla patrón. (ó patrón interno), y - contenía los siguientes plaguicidas en las concentraciones indicadas.

Beta -BHC	40 pg/ μ l
Oxíclordano (octacl.-Epoxido)	40 pg/ μ l
Heptacloro	40 pg/ μ l
P,P' -DDE	400 pg/ μ l
P,P' -DDT	400 pg/ μ l
Dieldrín	200 pg/ μ l

Por otro lado de las soluciones de 10 mg en - 100 ml., se tomó 1 ml., de cada una y de acuerdo con el patrón de dilución las soluciones se llevaron a un volumen de 100 ml, con hexano.

De estas nuevas soluciones se tomaron alícuotas de un ml. y se diluyeron 10 veces en una proporción de 1:2 obteniéndose las siguientes concentraciones.

- | | |
|-----------------------|---------------------------|
| 1.- 500 pg/ μ l | 6.- 16.625 pg/ μ l |
| 2.- 250 pg/ μ l | 7.- 7,8125 pg/ μ l |
| 3.- 125 pg/ μ l | 8.- 3.9065 pg/ μ l |
| 4.- 62.5 pg/ μ l | 9.- 1.953125 pg/ μ l |
| 5.- 31.25 pg/ μ l | 10.- 0.976562 pg/ μ l |

Las que se usaron para determinar la máxima - sensibilidad del aparato, así como el límite de linealidad de cada pesticida. Una vez establecidos estos parámetros así como los tiempos de retención de los pesticidas, se prepararon dos mezclas, cada una con 7 de los pesticidas a determinar separados por tiempos de retención tratando de obtener la mejor resolución posible y evitar la superposición.

MEZCLA A		MEZCLA B	
HEXACLOROBENCENO	8 pg/ μ l	ALFA-BHC	8 pg/ μ l
LINDANO	8 pg/ μ l	BETA-BHC	8 pg/ μ l
HEPTACLORO	8 pg/ μ l	ALDRIN	8 pg/ μ l
OCTACLOR EPOXIDO	8 pg/ μ l	HEPTACLORO EPOXIDO	8 pg/ μ l
TRANS-NONCLORO	8 pg/ μ l	P,P' -DDE	20 pg/ μ l
DIELDRIN	16 pg/ μ l	O,P' - DDT	40 pg/ μ l
P,P' -DDD	40 pg/ μ l	P,P' -DDT	40 pg/ μ l

De las cuales se realizaron diluciones 1:2 obteniéndose mezclas con la mitad de estas concentraciones. De estas últimas soluciones se inyectaban diariamente al cromatógrafo 5.0 μ l con objeto de llevar al control de - aparato en cuanto a sensibilidad y tiempo de retención.

PRUEBAS PARA LA PUREZA DE REACTIVOS

Los solventes y otros reactivos usados en el - análisis de pesticidas deben estar libres de substancias las cuales causan degradación o absorción de pesticidas - ó bien aquellas que interfieran en los pasos para la de- terminación de los mismos.

La pureza de los reactivos debe ser lo más al- ta posible, especialmente los solventes que deben ser - grado pesticida ó nanogrado.

HEXANO (grado pesticida).

El hexano debe tener un cuidado especial ya que es el reactivo en el cual se va a realizar la elaboración - total de la técnica y la inyección de los pesticidas en- el cromatógrafo por lo cual se tiene que realizar la si- guiente prueba; para detectar cualquier interferencia.

Se colocan 300 ml. de hexano en un matraz de rotavapor (ó en un frasco evaporador Kuderna) se reduce el volumen a 5 ml. aproximadamente y se inyecta al cromatógrafo 5 microlitos evaluandose al cromatograma resultante el cual solo debe presentar el pico originado por el solvente. En ocasiones el cromatograma puede presentar inflexiones sobre la línea base, pero estas no deben ser más del 1 por ciento del tamaño del pico del solvente. (46).

En caso de obtener una inflexión mayor habrá necesidad de destilar el hexano sobre sodio metálico.

ACETONA (grado pesticida).

Se colocan 100 ml. en un embudo de separación, de 500 ml. se agregan 100 ml. de sulfato de sodio al 2—por ciento (el sulfato y hexano deben estar previamente probados), se agita por espacio de un minuto, se deja reposar para que se separen las dos fases y se drena la fase acuosa, se hace pasar la fase orgánica por un embudo con sulfato de sodio anhidro para eliminar las trazas de humedad, se transfiere a un matraz de 250 ml., se reduce con un rotavapor a un volumen de 5 ml. y se inyectan 5 μ l. al cromatógrafo de gases evaluandose el cromatograma resultante, (46), el cual debe estar libre de contaminantes.

ACETONITRILLO (grado nanogrado).

Ocasionalmente los lotes de acetonitrilo son impuros y requieren ser redestilados. Una prueba para determinar la pureza del acetonitrilo es la siguiente: Se coloca en papel tornasol azul en la boca del recipiente que contiene el acetonitrilo dejando que los vapores pasen a través del papel (el cual estará previamente humedecido con agua destilada) si se realiza el cambio del papel tornasol azul o rojo la prueba será positiva y en este caso el acetonitrilo deberá ser destilado por el siguiente procedimiento: A 4 litros de acetonitrilo adicionar un mililitro de ácido fosfórico y piedras de ebullición, destilar dentro del rango de 81 a 82^a C. (sin exceder a esta temperatura) (46).

ETER ETILICO (grado nanogrado).

El eter etílico puede tener trazas de peróxidos por lo que es conveniente realizar la siguiente prueba: (46). Colocar 10 ml. de éter en un tubo de vidrio cilíndrico con tapa previamente enjuagado con éter, adicionar un ml. de KI al 10 por ciento (solución recientemente preparada), agitar durante un minuto y dejar reposar otro minuto. No debe observarse coloración amarilla en la capa del éter (46).

El éter usado deberá contener 2 por ciento de V/V (volumen a volumen) de etanol absoluto, algunas veces el éter ya trae el etanol como estabilizador y entonces no es necesario que se le añada.

SULFATO DE SODIO (grado reactivo) granular.

Antes de usar el sulfato debe ser tratado para eliminar cualquier contaminante orgánico que pueda tener. Dicho tratamiento consiste en colocarlo en una mufla por espacio de tres horas (mínimo), a una temperatura de 650° C, con lo cual todo compuesto orgánico que pudiera actuar como contaminante es completamente calcinado.

Una vez efectuado el tratamiento se procede a probarlo; como tendremos que usarlo en dos formas anhidro y en solución al 2% tendrá que probarse también en agua destilada.

Sulfato de sodio anhidro (46) colocar en una columna de las usadas para el fluorisil una cantidad apreciable de Na_2SO_4 equivalente a la cantidad usada en la técnica; (aproximadamente 10 g), extraiga con 150 ml de hexano y concentre el extracto en un rotavapor o bien en un evaporador Kuderna a un volumen de 1 ml aproximadamente e inyecte 5 microlitros evaluando el cromatograma resultante. Los resultados nos indicaran si es neces-

rio extraer con hexano antes de usarlo.

Agua destilada.- (46) Colocar 100 ml de agua - destilada en un embudo de separación y agregar 100 ml de hexano, agitar y drenar la fase acuosa una vez separadas las dos fases; concentrar el extracto, inyector al cromatógrafo de gases. Si aparecen picos extraños resultantes del agua destilada esta deberá ser extraída con hexano antes de usarse.

EVALUACION DEL FLORISIL

Cada lote de florisil deberá ser estandarizado antes de ser usado para la elución y limpieza de los pesticidas.

Primeramente; cada lote después de ser fabricado es tratado por espacio de 24 horas a una temperatura de 1250 °F, e inmediatamente después es empacado.

Al recibirse cada lote de florisil éste deberá ser desempacado y transferido a frascos de vidrio (preferiblemente ámbar) con tapón de vidrio o rosca.

Para ser estandarizado deberá colocarse en una estufa a 130°C por 24 horas mínimo, con lo cual queda -

listo para la prueba con el ácido láurico la que nos dará la capacidad de absorción del lote en particular.

METODO DEL ACIDO LAURICO.

Este método es rápido para determinar la capacidad de absorción del florisil (47) en base a la absorción del ácido láurico de la solución de hexano; se usa un exceso de ácido láurico y la cantidad que no es absorbida en medida por titulación alcalina, el peso del ácido láurico absorbido es usado para calcular, por simple proporción de cantidades equivalentes el peso del florisil necesario para la elución, ya que cada lote va a tener diferente capacidad de absorción.

APARATOS Y REACTIVOS.

- 1.- Bureta de 25 ml. 1/10 ml. con graduación.
- 2.- Matraces Erlen Meyer de 125 y 25 ml.
- 3.- Pipetas de 10 a 20 ml.
- 4.- Matraces volumétricos de 500 ml.
- 5.- Alcohol etílico USP ó absoluto, neutralizado con fenolftaleina.
- 6.- Hexano destilado para todo el material de vidrio.

7.- Acido láurico purificado QP (Solución de ácido láurico.

Transfiera 10.000 g de ácido láurico a un matraz volumétrico de 500 ml. disuelva en hexano y diluya hasta 500 ml. 1 ml.=26 mg.)

8.- Fenolftaleina, disuelva un gramo en alcohol y diluya a 100 ml..

9.- Hidróxido de sodio. Disuelva 20 g. de NaOH a 500 ml. con agua (Soln. 1.0N de NaOH) - de esta nueva Soln tomar 25 ml. y aforar nuevamente a 500 ml. con H2O destilada (Soln. 0.05N de NaOH). Estandarizar como sigue: Pesar de 100 a 200 mg. de Ac. Láurico en 1 matraz de 125 ml. Agregar 50 ml. de Alcohol etílico neutralizado y 3 gotas de fenolftaleína. Titule con NaOH 0.05 N al vire permanente.

Calcule mg. de ácido láurico por ml - de NaOH-0.05 N (debe dar cerca de 10 mg./ml).

PROCEDIMIENTO.- Transfiera 2.00 g. de fluorosil a un matraz de 25 ml. cubralo con papel aluminio y caliente toda la noche a 130 °C., enfrie en desecador y agregue 20.0ml, de la solución de ácido láurico (400 mg.) tape y agite ocasionalmente por espacio de 15 min., deje que el adsorbente se asiente y pipete el 0 ml. de adsorben

te de un matr az de 125 ml. Sin incluir el fluorisil. -
 Agregue 50 ml. de alcohol neutralizado y 3 gotas de fe -
 nolftaleina. Titule con NaOH 0.05 N hasta el punto de -
 vires permanente.

CÁLCULOS: Calcular la cantidad de ácido l uri -
 co absorbido en florisil como sigue: Valor de ácido la  -
 rico (LA) = mg LA/g florisil.

Valor LA= 200-(ml. requeridos para la titula -
 cion X mg.  cido láurico /ml. de Na OH 0.05 N).

Para determinar el peso de la columna de flo -
 risil se divide 110 entre el valor obtenido del ácido -
 láurico y se multiplica por 20.

C culos y Resultados.

El lote probado di  los siguientes resultados:

La prueba se realizó por triplicado:

Ml de NaOH 0.05 N Gastados	Mg de ácido láurico
1) 12.80 ml.	1) 108.4 mg.
2) 15.35 ml.	2) 131.5 mg.
3) 13.05 ml.	3) 111.7 mg.

Mg ácido láurico /ml. de NaOH 0.05 N

- 1) 108.4 mg. = 8.46 mg/ml Na OH
- 2) 131.5 mg. = 8.50 mg/ml NaOH
- 3) 111.7 mg. = 8.55 mg/ml NaOH

Valor promedio = 8.5 mg. Ac. láurico/ml NaOH - 0.05 N

Valor del ácido láurico = $200 - (\text{ml requeridos} - \text{p/titulación} \times \text{mg de ácido láurico/ml NaOH} - 0.05 \text{ N})$.

- 1) Valor de ácido láurico = $200 - (13 \times 8.5)$
- 1) Valor del ácido laurico = 85.25
- 2) Valor del ácido láurico = $200 - (13.6 \times 8.5)$
- 2) Valor del ácido láurico = 200 - 115.6
- 2) Valor del ácido láurico = 84.4
- 3) Valor del ácido láurico = $200 - (13.6 \times 8.5)$
- 3) Valor del ácido láurico = 200 - 115.6
- 3) Valor del ácido láurico = 84.4

Valor del ácido láurico promedio = 84.4+84.4+85.2

Valor promedio = 84.6

Determinación del peso de la columna de florisil

$$\text{Peso de la columna de florisil} = \frac{110 \times 20}{84.6}$$

Peso de la columna de florisil = 26.g.

ELUCION DE LOS PESTICIDAS

Una vez terminada la cantidad de florisil que va a llevar la columna se procede a preparar dos mezclas de estándares de los pesticidas los cuales estarán como sigue:

Alfa BHC	20 pg/microlitro		Hexacloro Benceno	40pg/micro litro.
Lindano	20	"		
Heptacloro	20	"	Beta BHC	40 "
Aldrín	20	"	Heptacloro Epóxido	40 "
Octacloro epóxido	40	"	p,p' DDE	100 "
Trans-nonaclor	40	"	p,p' DDD	100 "

Dieldrin	40 pg/microlitro	
o,p' -DDT	50	"
p,p' -DDT	100	"

Se prepararon tres columnas las cuales se empacaron con la cantidad obtenida de florisil y se lavo cada columna con 150 ml. de hexano (previamente probado) y se prosigue con la elusión de los estándares. La primera columna se usará hexano con control.

Se comienza la elución con 200 ml. de una solución de éter etílico al 6% en hexano; eluyendose con una velocidad de 5 ml. por minuto y tomándose alícuotas de 25 ml. Al terminar los 200 ml. de la solución del 6% se procede a eluir otros 200 ml. de una solución al 15%. Se evaporan las alícuotas en baño maría (35-40 °C) hasta un volumen de 2 a 5 ml. Se agrega un poco de sulfato de sodio y se transfiere a tubos de centrifuga lavando las paredes de matríz con 5 ml. de hexano y se reduce el volumen con corriente de Nitrógeno a 5 ml, exactamente -- (45).

Se inyectan al cromatógrafo 5 microlitos.

CALCULOS

- 1) Se mide la altura de todos los picos de los

PERFIL DE LA ELUCION DE LA MEZCLA I.

TABLA III

55-1

ESTANDARES	FRACCION	ELUATOS								RECUPERACION FINAL
		1	2	3	4	5	6	7	8	
ALFA-BHC	6%	0	0	48.8	28.1	18.5	15.3	0	0	94.71 %
LINDANO	6%	0	0	2.92	40.3	36.2	20.5	0	0	89.26 %
HEPTACLORO	6%	0	0	43.0	33.9	19.8	3.20	0	0	92.51 %
ALDRIN	6%	0	0	54.7	31.9	11.7	1.68	0	0	92.29 %
OCTACLORO EPOXIDO	6%	0	0	52.1	18.5	16.6	10.0	1	0	95.92 %
TRANS- NONACLOR	6%	0	0	80.1	10.7	9.29	0	0	0	92.89 %
DIELDRIN	15%	0	0	10.9	45.1	23.0	3.4	0	0	82.43 %
O ₁ P ² -DDT	6%	0	0	57.5	18.2	12.6	6.73	0	0	92.44 %
P ₂ P ¹ -DDT	6%	0	3	42.0	23.1	17.1	6.15	0	0	96.51 %

PERFIL DE LE ELUCION DE LA MEZCLA II

TABLA IV

ESTANDARES	FRACCION	ELUATOS								RECUPERACION FINAL
		1	2	3	4	5	6	7	8	
HEXACLORO- BENCENO	6%	0	0	39.7	23.9	26.8	4.32	0	0	92.24 %
BETA-BHC	6%	0	0	20.2	25.3	22.8	16.4	3.4	2.2	90.20 %
HEPTACLORO EPOXIDO	6%	0	0	0	0	58.3	24.6	17	6.4	106.28 %
P ₁ P ¹ -DDE	6%	0	0	52.9	22.5	19.6	0	0	0	95.0 %
P ₂ P ¹ -DDD	6%	0	0	23.0	34.8	43.1	0	0	0	101.0 %

estandares originales y de los eluatos para cada compuesto y en base a la altura se calcula el porcentaje de cada uno:

Ejemplo: Lindano 0-100 eluato 30 mm. de altura
 100-200 eluato 60 mm. de altura
 estandar original 98 mm. de altura

$$\text{En 0-100} = \frac{30}{30 + 60} \times 100 = 33\%$$

$$100-200 = \frac{60}{30 + 60} \times 100 = 67\%$$

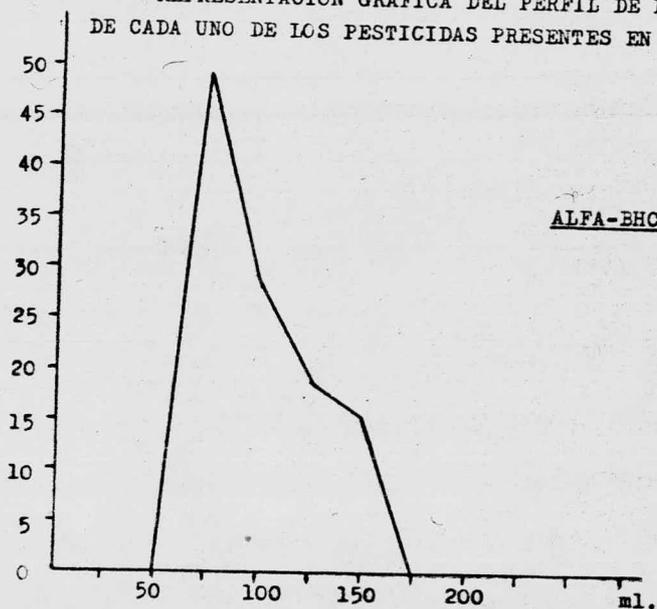
Se computa la elución obtenida dividiendo la suma de las alturas de los picos de los eluatos, entre la altura del pico del estándar original.

$$\frac{30 \times 60}{98} \times 100 = 92\% \text{ de recuperación.}$$

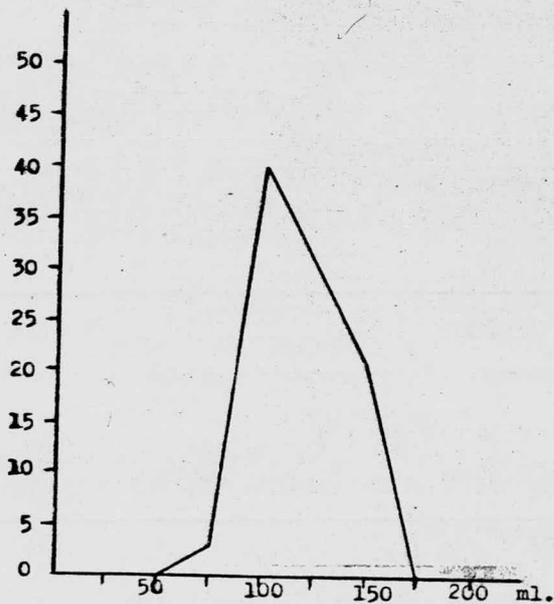
Con excepción del Dieldrín todos los compuestos organoclorados se recuperaron de 90 a 103%. El Dieldrín está en 80%.

REPRESENTACION GRAFICA DEL PERFIL DE ELUCION
DE CADA UNO DE LOS PESTICIDAS PRESENTES EN LA MEZCLA I.

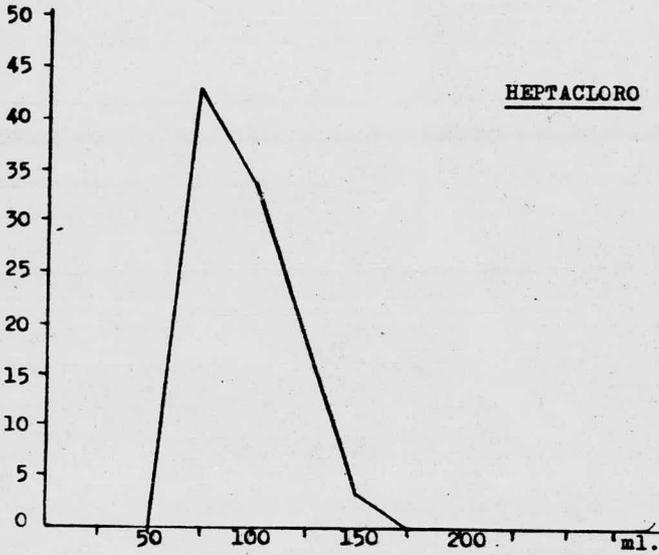
56-A



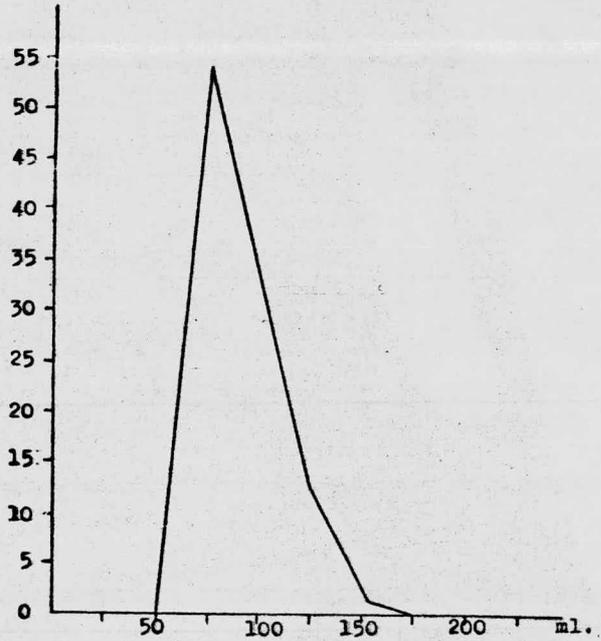
LINDANO



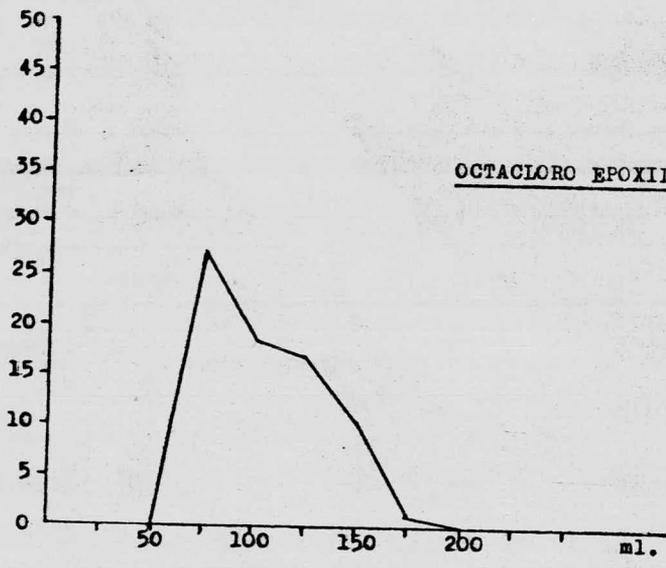
HEPTACHLORO



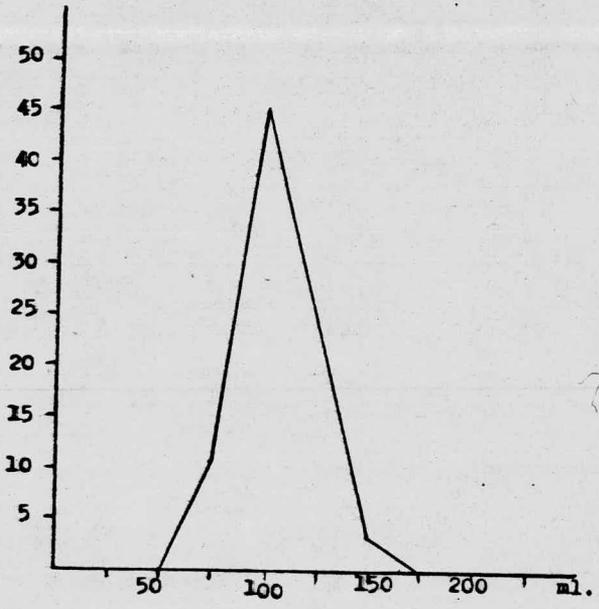
ALDRIN



OCTACLORO EPOXIDO

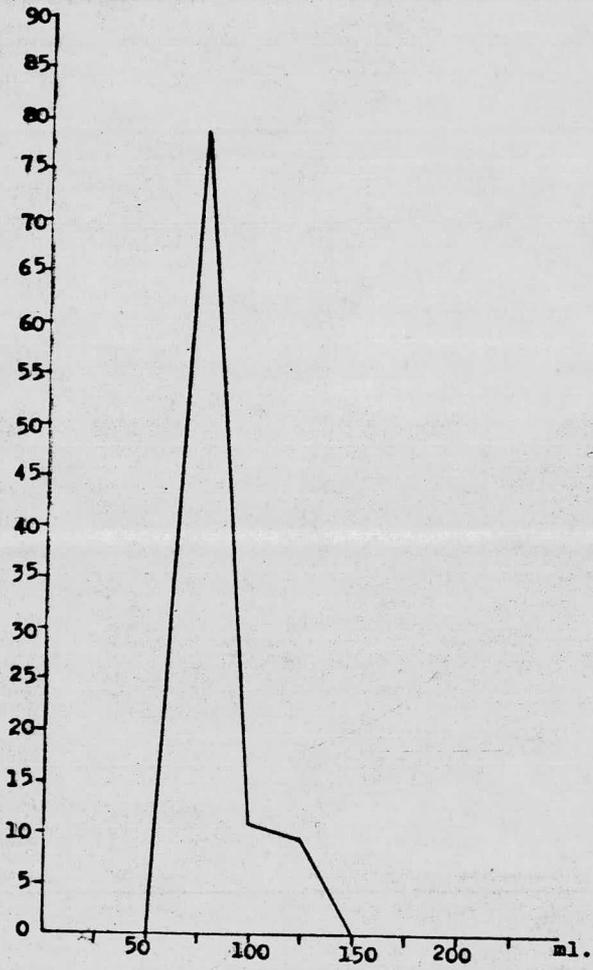


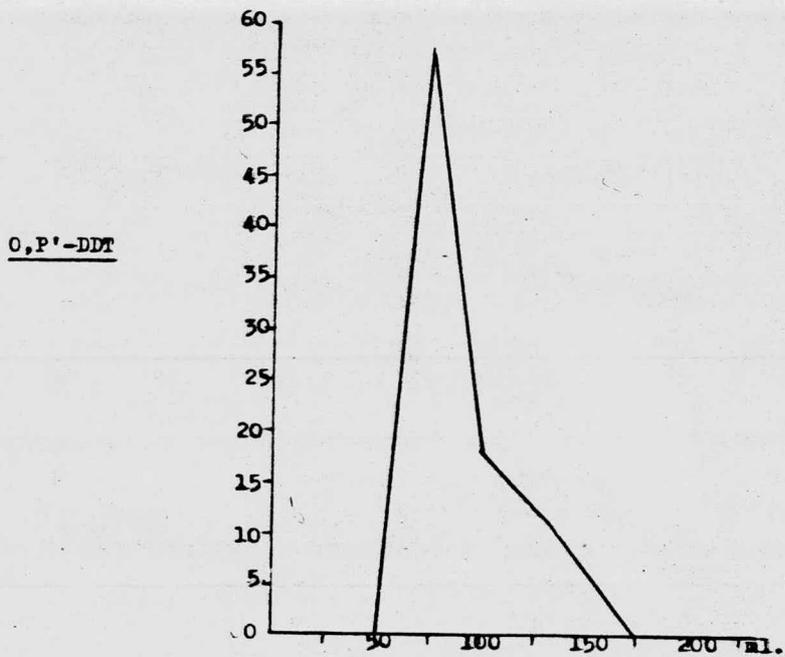
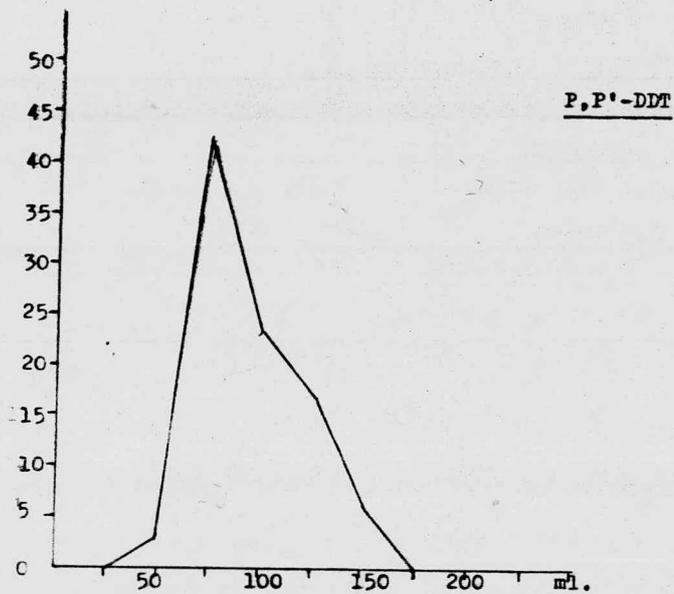
DI ELDRIIN



TRANS-NONACLOR

55-D

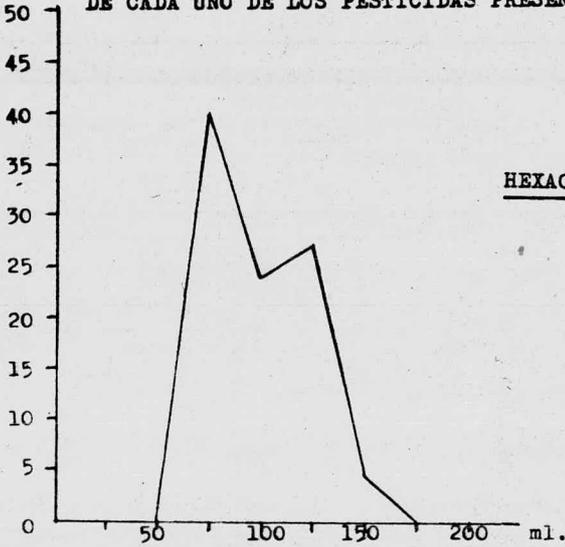




REPRESENTACION GRAFICA DEL PERFIL DE ELUCION

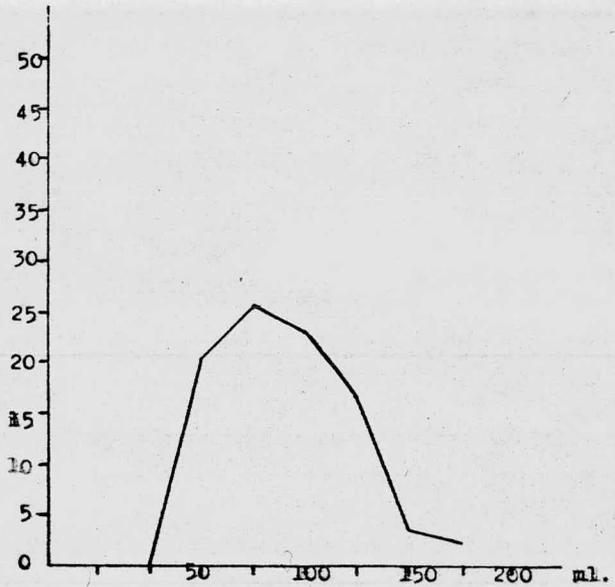
56-F

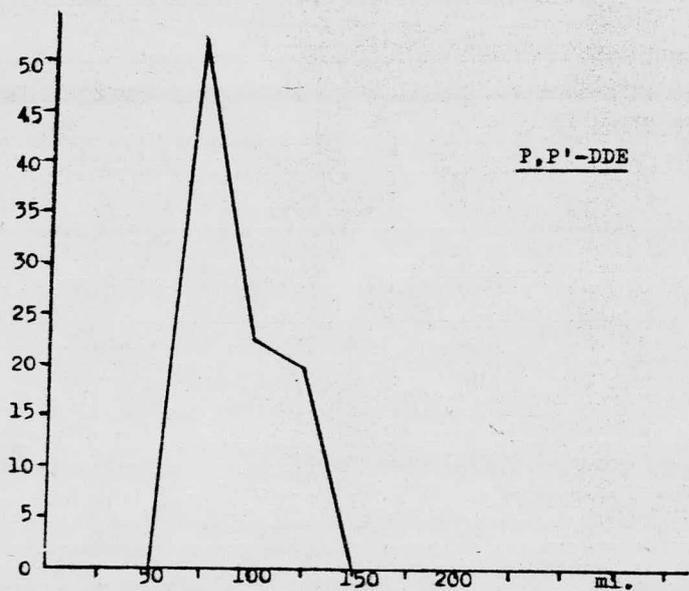
DE CADA UNO DE LOS PESTICIDAS PRESENTES EN LA MEZCLA II.



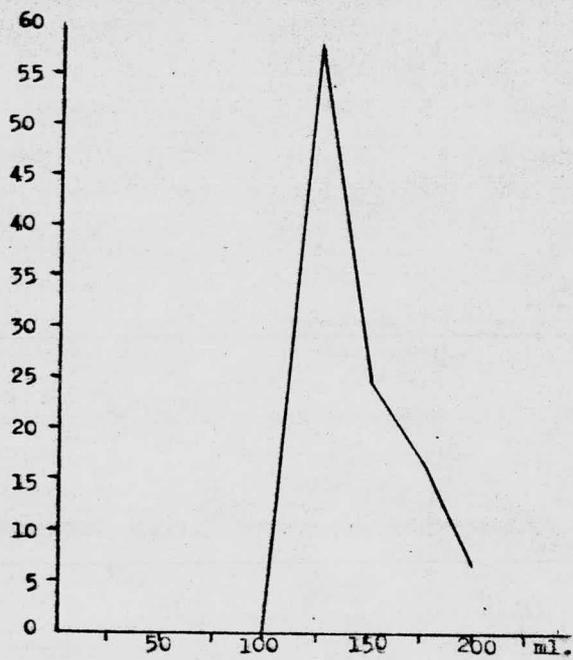
HEXACLOROBENCENO

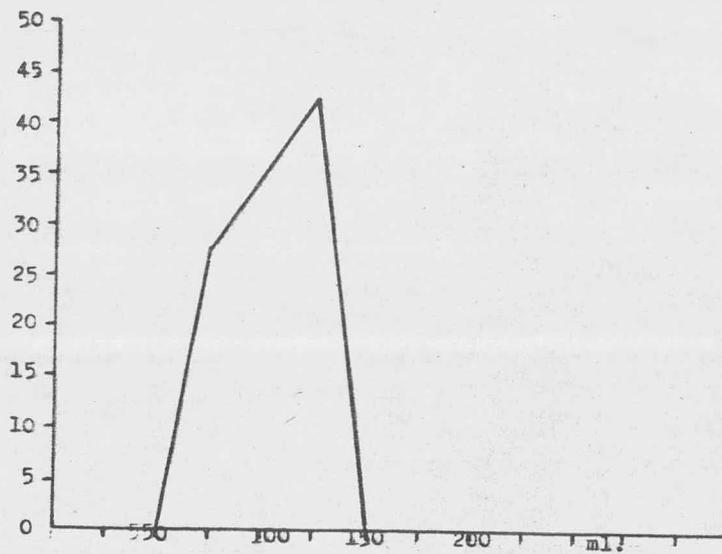
BETA-BHC





HEPTACLORO
EPOXIDO



P,P'-DDD

c) LIMPIEZA DEL MATERIAL DE LABORATORIO (46)

En un laboratorio involucrado en el análisis de muestras que contengan residuos de pesticidas en el rango de partes por billón es necesaria una exhaustiva limpieza del material de laboratorio, ya que puede haber un fracaso debido a la aparición de picos extraños en el cromatograma resultantes de la contaminación del material, lo que nos dará errores en la interpretación de los cromatogramas.

Un cuidado muy especial debe tenerse con los recipientes en los que va a realizarse la concentración de los pesticidas, pues si estos llegaran a tener algún contaminante, al concentrar la muestra también se concentraría dicho compuesto. Dando como resultado picos extraños en el cromatograma, los cuales en casos extremos pueden superponerse completamente con los picos de los insecticidas y enmascararlos completamente.

No existe un procedimiento general para este propósito, sin embargo los pasos básicos para realizar una buena limpieza son:

- 1.- Remover de la superficie del material los residuos inmediatamente después de usarlo.

- 2.- Usar un baño de jabón caliente para eliminar los residuos de grasa por flotación.
- 3.- Enjuagar con agua corriente para eliminar la grasa flotante.
- 4.- Someter el material a un baño con un agente penetrante profundo para destruir las trazas de grasas orgánicas.
- 5.- Lavado con agua corriente caliente para eliminar los substancias residuales, dejadas por el baño con el agente penetrante.
- 6.- Un lavado con agua destilada para eliminar los depósitos metálicos del agua corriente.
- 7.- Un lavado con acetona para eliminar las trazas finales de material orgánico.
- 8.- Hacer un lavado preliminar del material justamente antes de usarlo con el mismo solvente que va a ser usado en el análisis.

A continuación será discutido cada uno de los-

ocho pasos fundamentales.

1.- Tan pronto como sea posible despues de --
usar el material de vidrio que estuvo en contacto con --
pesticidas desconocidos, este deberá ser lavado con ace-
tona antes de colocarlo en el baño de detergente calien-
te, si esto no se hiciera, el mismo baño servirá como --
fuente contaminante para el material colocado en el, ya-
que muchos ejemplos de contaminación con un pesticida da
do han sido originados por el baño de lavado.

2.- El baño de jabón caliente se efectua en un
recipiente con un detergente disuelto en agua a 50°C. --
El detergente polvo ó líquido, deberá ser enteramente --
sintefico y no un ácido base graso, debido a que en algu-
nas areas del país la dureza del agua no es lo suficien-
temente baja para evitar la formación de algunas escamas
resultantes de la reacción entre las sales de calico y --
de magnesio de las aguas duras y los ácidos grasos del --
jabón; estos acidos podrían tener afinidad por los pesti-
cidas organoclorados y siendo la mayoría de éstos insolu-
bles en agua, se depositan sobre el material colocado en
el baño en forma de una fina película.

Ciertos detergentes contienen a veces trazas --
de compuestos orgánicos, lo que puede favorecer la conta-
minación del detector de captura de electrones. Por es-
ta razón cualquier detergente seleccionado deberá ser --

checado cuidadosamente para asegurarse de que esté libre de dichos contaminantes: para esto se recomienda el siguiente procedimiento.

Añadir 25 ml. de agua destilada (previamente -
checada) libre de contaminantes a un embudo de separa-
ción de 250 ml., adicionar una gota del detergente líqui-
do ó 50 mg. si es en forma de polvo, en seguida adiciona-
100 ml., de hexano al matr^áz y agitar vigorosamente por
dos minutos, dejar que se separen las dos fases y drenar
la fase acuosa. Adicionar una pequeña porción de Na₂SO₄
anhídrido al extracto de hexano y agitar un minuto, -
transferir el hexano a un evaporador Kuderna ó un rotava-
por y reducir al 10 ml. transferir a un tubo concentra -
dor y reducir en baño maría a 3 ml, usando corriente de
nitrógeno, enjuagar las paredes del tubo con hexano y -
aforar a 5 ml, tapar el tubo y agitar, inyectar al cromá-
tógrafo de gases, y evaluar el cromatograma resultante.

3.- No quiere comentario.

4.- En algunas ocasiones es necesario usar el-
mas común y efectivo de los agentes oxidantes, la tradi-
cional mezcla crómica elaborada con H₂SO₄ y dicromato de
sodio ó potasio, para lograr una mayor eficiencia el ba-
ño de la solución ácida deberá calentarse a una tempera-
tura de 40 a 50°C, para su manipulación deberán tomarse-
las precauciones necesarias, las cuales han sido sufi-
cientemente difundidas.

5,6, y 7.- No requieren comentario especial.

8.- Hay siempre una posibilidad que entre el momento del lavado y el momento de usar nuevamente el material, éste puede adquirir contaminación del medio ambiente ó de contacto directo, para evitar esto es buena práctica enjuagarlo antes de usarlo con alguno de los mismos solventes que se usarán en el análisis.

El secado y almacenaje del material de vidrio es de gran importancia, ó los efectos benéficos del escurpulo lavado pueden ser nulificados por un descuido en el almacenaje del material. El secado sobre madera no es recomendable pues los contaminantes pueden estar en el interior de los poros de la misma y pasar al material por contacto. Por esto son recomendados las escurrideras de metal cubiertas de neopreno, las cuales poseen unos picos en los que cualquier material puede ser invertido y suspendido para su secado. El material pequeño que no puede colgarse en el escurridor deberá ser secado sobre hojas de papel aluminio. Todo el material después de secado debe cubrirse con papel aluminio para evitar contaminación posterior al lavado.

d) DETERMINACION DE PESTICIDAS EN LECHE MATERNA

RECOLECCION DE LA MUESTRA:

Las muestras fueron recolectadas en frascos -- de vidrio de boca ancha de 60 ml. de capacidad con tapón de rosca (de plástico) y con una contratapa de teflón, -- los cuales se sometieron el mismo proceso de limpieza -- que el material de vidrio.

El personal encargado de recolectar las muestras fue especialmente adiestrado para evitar que pudieran contaminar las muestras al momento de tomarlas.

LA TECNICA DE RECOLECCION CONSISTIO EN:

Un asistente (que siempre fueron del sexo femenino), sostenía el recipiente, mientras que la donadora -- vertía la leche en el frasco mediante la opresión manual de los senos, cuidando de no tocar la boca del frasco, -- el cual era inmediatamente etiquetado y sometido a congelación, quedando así hasta el momento del análisis para evitar cualquier descomposición de la leche.

Se recolectaron aproximadamente de 20 a 30 ml. de muestra separando una alícuota para el control de ca-

lidad externo.

El método empleado para el análisis de las muestras, fue una modificación del propuesto por Savage y colaboradores (38), y que fue aprobado por la EPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norteamérica). Este a su vez está basado en los métodos sugeridos por Guifrida y otros (37) así como en el de Gurley y Kimbrough (22) que ya hemos mencionado anteriormente.

El procedimiento consiste en 3 partes:

- 1).- Separación de la grasa de la leche.
- 2).- Extracción de los pesticidas de la grasa.
- 3).- Limpieza de los pesticidas.

EXTRACCION DE LA GRASA DE LA LECHE:

Primeramente la muestra debe ser descongelada y homogeneizada por medio de agitación manual.

- 1.- Pesar dentro de una botella de centrifuga-seca y limpia entre 5 y 15 g. de la muestra, los cuales se transfieren por medio de una pipeta pasteur con un bulbo de hule.

2.- Agregar una pequeña cantidad de fibra de vidrio para adherir los sólidos precipitados de la leche.

3.- Añadir 100 ml. de acetona a la botella de centrífuga agitar manualmente por un minuto y centrifugar durante 5 minutos a 1,500 r. p. m.

4.- Filtrar la solución a través de un embudo de filtración con papel filtro No. 42.

5.- Agregar 25 ml. de acetona, agitar manualmente por un minuto y filtrar nuevamente, repetir la operación una vez más juntando los extractos en el embudo de separación.

6.- Añadir 50 ml. de N-hexano a la botella la cual tiene el precipitado de la leche, agitar manualmente un minuto y contrifugar 5 minutos a la 1.500 rpm.

7.- Filtrar el extracto resultante y combinarlo con los extractos de acetona en el embudo de separación.

8.- Agregar nuevamente 50 ml. de N-Hexano a la botella de centrífuga y agitar manualmente por un minuto, combinando una vez más este extracto con los extractos

anteriores. Desechado el residuo sólido que quede en el embudo.

9.- Añadir un volúmen de 125 ml de Na_2SO_4 al 2% al embudo de separación de 500 ml. tapar y agitar durante un minuto, esperar a que se separen las dos fases y drenar la fase acuosa, repetir la operación por segunda vez.

10.- Preparar un embudo de filtración rápida con una pequeña cantidad de lana de vidrio y aproximadamente 10 g. Na_2SO_4 anhidrido lavar el Na_2SO_4 con 60 ml. de hexano aproximadamente descartandolo, y drenar el extracto de N-hexano del embudo de separación de 500 ml. dentro del embudo con el sulfato. Deje que el hexano llegue al tope del sulfato y lave 3 veces el embudo de separación con 30 ml. de N-hexano cada vez recolectando tanto los extractos como el hexano de lavado en un matraz limpio y seco de 250 ml. (fondo plano entrada 24/40).

11.- Reducir el volumen en el matrás a aproximadamente 70 ml. por medio de un rotavapor y transferir cuantitativamente a un matrás de 100 ml. con hexano y juntando las aguas de lavado en el matrás aforado hasta llegar al aforó.

12.- Pipetear un volúmen de 20 ml. que representan 1/5 parte de la muestra original dentro de un va-

so de precipitado de 50 ml. limpio y seco previamente - pasado y colocarlos dentro de una estufa a 37° durante una noche para la determinación de lípidos.

13.- Los 80 ml. restantes se transfieren nuevamente a un matr az de 250 ml. con entrada de 24/40 en - juagando 3 veces al matr az aforado con aproximadamente - 10 ml. de hexano (cada vez) y reducir nuevamente el volu - m en 5 ml. transferir por medio de una pipeta Pasteur a - un embudo de separación de 125 ml. enjuagado el matr az - con 10 ml. de hexano de tal manera que nos queden exacta - mente 15 ml. de hexano para el siguiente paso.

II.- EXTRACCION DE LOS PESTICIDAS DE LA GRASA.

Partición líquido - líquido.

1.- Agregar 30 ml. de acetonitrilo previamente saturados con hexano, al embudo de separación de 125 ml. tapar y agitar vigorosamente por 2 minutos.

2.- Dejar que se separen las dos fases y dre - nar la capa de acetonitrilo a un embudo de separación - de L.L. que contenga 550 ml. de solución de Na_2SO_4 al 2% y 100 ml. de hexano.

3.- De la misma manera, extraer la capa de hexano en el embudo de separación de 125 ml. 3 veces más, - con porciones de 30 ml. de acetonitrilo combinado todos- de extractos de acetonitrilo en el embudo de separación de 11.

4.- Tapar e invertir el embudo de un litro sacando el aire exedente por medio de la llave y mezclar - por dos minutos dejando salir el aire cuantas veces sea necesario.

5.- Dejar separar las fases y descartar la fase acuosa.

6.- Lavar el hexano con dos porciones 100 ml.- de Na_2SO_4 al 2% (agitando 60 seg.), y descartar la fase acuosa.

7.- Tranfiera la fase eterea en un matríz de - 250 ml. (entrada 24/40) lavando tres veces el embudo con porciones de 30 ml. de hexano cada vez y reducir el volumen a 5 ml. aproximadamente.

8.- Colocar una columna con 30 g. de alumina - prelavandola con 100 ml. de hexano, y transferir el concentrado que tiene la muestra a la columna por medio de-

pipeta. Pasteur, lavando el matr az con tres porciones - de 5-10 ml. de hexano los cuales tambi en se colocaron en la columna.

9.- Eluir la columna con 100 ml. de hexano recogiendo el eluato y concentrar nuevamente a 5 ml.

III.- SEPARACION CON FLORISIL LIMPIEZA DE LOS- PESTICIDAS.

1.- Preparar una columna cromatográfica conteniendo 26 g de florisil activado a 130°C, y 1 1/2 pulgadas de Na₂SO₄ anhidrido granular. Una pequeña cantidad de lana de vidrio es colocada en la parte inferior de la columna para evitar que el florisil, sea arrastrado por el hexano al momento de hacer la elución.

NOTA.- La cantidad de di esial necesario para proporcionar la elución será determinada para c/lote de florisil, por medio de la prueba del ácido láurico (47).

2.- Prelavar la columna con 150ml. de hexano.

3.- Usando una pipeta desechable, transferir - inmediatamente el extracto (5 ml.) de matr az dentro de -

la columna y permitirle que llegue a el tope de Na_2SO_4 .

4.- Enjuagar el matr az con dos porciones sucesivas de 5 ml. de hexano transfiriendo cuidadosamente — c/porción a la columna con la pipieta desechable (Pesteur) y dejando que la solución llegue al tope de sulfato de sodio.

5.- Colocar bajo cada columna un matr az de 500 ml. de fondo plano entrada 24/40 y comenzar la elución — con 200 ml. de 6% de éter en hexano (fracción I) La velocidad de elución deberá ser de 5 ml. por minuto. Cuando se termin  la elución del solvente colocar un segundo matr az bajo la columna y continuar la elución con 200 ml. de la fracción del 13% de éter en hexano. (fracción II).

7.- Reducir el volumen de los eluatos a un volumen de 3 a 5 ml. en un rotavapor.

8.- Tranfir los concentrados de los eluatos a los tubos de centrífuga con tapón y enjuagando los matraces con 3 porciones de 3-5 ml. de hexano recolectando los lavados en el mismo tubo.

9.- Reducir el volumen de los tubos con corriente de nitrógeno en un baño a 37 C hasta un volumen de 5— ml. (exactos).

10.- Tomar 5 microlitros de la solución anterior e inyectar al cromatógrafo.

MATERIAL DE LABORATORIO

- 1.- Botellas de Centrifuga - Sarguet # S-18460
200 ml. con tapa de plástico y liners de -
teflón, National, científico, Co. tamaño 38,
1/2 pulgadas de diámetro.
- 2.- Lana de vidrio - Fisher # 11-388, Purex -
brand 3950.
- 3.- Centrifuga - I.E.C. Modelo E x D tamaño 2.
- 4.- Embudos de Separación - 500 ml. 125 ml. --
1000 ml. Pyrex o equivalente, con llave de
teflón y tapón esmerilado.
- 5.- Columnas cromatográficas: 25 mm. de d. por
300 mm. de log., con llave de teflón, con-
o sin placas de vidrio porosa, Kontex.
- 6.- Matraces de fondo plano Pyrex de cuello cor-
to entrada. 24/40 de 250 y 500 ml.
- 7.- Rotavapor.

8.- Columnas Micro-Snyder 19/22 Kontex o equivalente.

9.- Piedras de ebullición: Fisher.

10.- Pipetas desechables - Fisher, de 2 ml. de capacidad.

11.- Matraces aforados - 100 ml. Pyrex ó Equivalente.

12.- Vasos de precipitados: 50 ml. Pyrex.

13.- Pipetas - 20 ml. Pyrex.

APARATOS Y REACTIVOS

- 1.- N. Hexano - grado pesticida.
- 2.- Acetona - grado pesticida.
- 3.- Eter etílico - grado nanogrado, libre de -
peróxidos Mallen Kredt. 0850 ó equivalente
- 4.- Mezcla de elución - 8% (6+94) - 60 ml. - -
éter etílico purificado, diluido a 1,000 -
ml. con hexano, grado pesticida.
- 5.- Mezcla de elución - 13% (15+85) 150 ml. - -
éter etílico, purificado, diluido a 1,000-
ml. con hexano, grado pesticida.
- 6.- Fluorisil - malla 60/100, grado PR almace-
nado a 130° C hasta su uso.
- 7.- Acetonitrilo - grado manogrado, saturado -
con hexano.
- 8.- Sulfato de sodio anhidro - grado reactivo,
granular Mallen Ckrodt N° 8024.

9.- Oxido de Aluminio.

EQUIPO.

- 1.- Horno capaz de calentar a temperatura de 37 a 130 °C.
- 2.- Mufla capaz de calentar a 650°C.
- 3.- Cromatógrafo de gases, Packard Modelo 421- con detector de captura de electrones.

e).- CARACTERISTICAS Y PARAMETROS DEL APARATO.

Se usó un cromatógrafo de gases H. P Packard, - modelo 421 con dos detectores de captura de electrones - con fuente de ionización de Ni^{63} con una intensidad de 10 mc: (micro curies).

Las columnas fueron de vidrio de Borosilicato- de 6' X 1/4" en forma de "U" usando como empaque:

Columna: A) 4% de SE - 30 y 6% de OV-210 sobre gas Okrom "Q".

Columna: B) 1.5% de OV - 17 y 1.95% de QF -1 - sobre gas Okrom "Q".

Detector = 300 °C

Temperaturas: Inyector = 225

Columnas = 200

Atenuación = 4

Parámetros
del Detector

Sensibilidad = 10

f) PRECAUCIONES GENERALES

Lo más importante en este estudio es evitar la contaminación por todos los medios posibles, así como la pérdida de muestra pues, al trabajar con cantidades muy pequeñas, cualquier pérdida puede alterar de una manera definitiva los resultados:

En lo que respecta a las precauciones lo podemos dividir en dos aspectos principales:

a).- Precauciones en cuanto al proceso de extracción.

b).- Precauciones con respecto al aparato.

B).- Para evitar la contaminación lo más importante es no tocar con las manos nada que estuviera en contacto con la muestra, como la lana de vidrio y el papel filtro, que deben ser manejados con pinzas, así como todo el material por la parte interior la cual está en contacto con la muestra.

Para evitar pérdida de la muestra fue necesario que cada vez que se transfería la muestra de un recipiente a otro se lavaran cuidadosamente los recipientes.

B).- Para evitar la contaminación del detector, se necesitó usar Nitrógeno de alto grado de pureza, al que se le colocó un filtro a base de tierras diatomeas para limpieza adicional.

Por otro lado, debió vigilarse que el flujo del gas portador fuera constante, así como la temperatura del detector, el inyector y la columna, pues al variar cualquiera de estos parámetros se modificaba el tiempo de retención de los pesticidas dando resultados erróneos.

Cuando se trabaja con extractos de muestra los cuales tienen tan bajas concentraciones a determinar es necesario medir lo más exactamente posible, tanto el volumen del extracto como el de inyección (al cromatógrafo de gases).

Por esto para medir el volumen del extracto se usan tubos graduados de los cuales se haya verificado la graduación. Para medir exactamente el volumen de inyección existen dos métodos esenciales:

1.- Se mide en la jeringa exactamente el volumen que se desea inyectar dejando una pequeña cantidad de aire entre el embudo y el líquido y entre el líquido y la punta de la aguja de esta manera todo el líquido entrará al cromatógrafo.

Quando se carece de práctica para inyectar, la presión del gas que fluye a través del aparato puede empujar la muestra nuevamente hacia afuera y en realidad no se inyecta lo que se midió, por esta razón, siempre es conveniente revisar la jeringa, y si quedó algo de solución, restársela al volúmen medido inicialmente.

2.- Se mide una cantidad de solución determinada y se inyecta al cromatógrafo. Se mide el volumen inyectado que quedó dentro de la jeringa y se calcula el volumen inyectado por diferencia de volúmenes. Es conveniente en este caso medir el volumen de muestra retenido por la jeringa para tomarlo en cuenta al hacer la diferencia.

En este estudio se usó el método 2, ya que se consideró como el más conveniente.

El volumen retenido por la aguja en nuestro caso fue de:

0.8 μ l

De manera que el medirse 5 μ l se estaban midiendo realmente:

5.8 μ l

g) METODO DE CONFIRMACION EMPLEADO.

Confirmación de insecticidas desarrollado por-cromatografía en capa fina.

Referencias que se pueden consultar (38 y 48).

La cromatografía en capa fina nos da la sensibilidad requerida para la rutina del análisis de residuos; el límite de detección para estos insecticidas organoclorados será de 10 a 100 mg. Por lo que es necesaria una concentración alta de residuos para que una concentración baja de residuos pueda ser detectada visualmente.

- 1) Preparar las placas con 30 g. de silica gel y suficiente agua y ponerlos a secar a temperatura ambiente por 5 min.
- 2) Activar las placas calentando por una hora de 80 a 90°C guardar en el desecador.
- 3) Aplicar 5 μ l de los estandares y de la muestra.
- 4.- Desarrollar en 1% de acetona y éter de petróleo.

de la pte
79

5).- Posteriormente revelar con 15 ml. del - - reactivo cronogénico aplicando la solución a 30 cm de - - distancia. El reactivo es preparado como sigue:

Disolver 0.2 g de AgNO_3 en 1 ml de agua destilad, agregar 30 ml. de 2 fenoxietanol, 170 ml de acetona y tres gotas de peróxido de Hidrógeno.

El reactivo deberá ser aplicado rociado tres - veces cada vez con 5 ml. y secando la placa después de - que se ha rociado.

6).- Secar la placa en el horno de aire por 3- min. a 110° .

7).- Exponer las placas a radiación ultravioleta hasta que las manchas aparezcan. Treinta minutos de exposición son suficientes pero el progreso del desarrollo deberá ser checado y las placas examinadas.

Resultados.

Al ser corridas las placas se obtuvieron unas manchas de color café obscuro.



5).- Posteriormente revelar con 15 ml. del - -
reactivo cronogénico aplicando la solución a 30 cm de -
distancia. El reactivo es preparado como sigue:

Disolver 0.2 g de AgNO_3 en 1 ml de agua desti-
lad, agregar 30 ml. de 2 fenoxietanol, 170 ml de acetona
y tres gotas de peróxido de Hidrógeno.

El reactivo deberá ser aplicado rociado tres -
veces cada vez con 5 ml. y secando la placa después de -
que se ha rociado.

6).- Secar la placa en el horno de aire por 3-
min. a 110° .

7).- Exponer las placas a radiación ultravioleta
hasta que las manchas aparezcan. Treinta minutos de-
exposición son suficientes pero el progreso del desarro-
llo deberá ser checado y las placas examinadas.

Resultados.

Al ser corridas las placas se obtuvieron unas-
manchas de color café oscuro.

da en la técnica, lo que se realizó colocando al 50% de las muestras un patrón interno con los pesticidas más importantes, con lo que se obtuvo la recuperación de los mismos.

Esta mezcla contenía los siguientes pesticidas en las concentraciones indicadas.

Mezcla Patrón,

B-BHC 40 Pg/ul

Oxiclordano 40 Pg/ul

Heptacloro 40 Pg/ul

p,p' - DDE 400 Pg/ul

p,p' - DDT 400 Pg/ul

Dieldrín - 200 Pg/ul

2.- El control, externo se realizó a través del laboratorio del centro de pesticidas de la Universidad de Colorado, al cual se envió una alícuota del 20% de las muestras para su análisis. Este segundo tipo de control tuvo por objeto evaluar la confiabilidad de los resultados obtenidos en el procesamiento de las muestras así como detectar cualquier falla en cuanto al aparato ó bien en lo que respecta al manejo de la muestra durante la extracción de los pesticidas obteniéndose resultados similares.

IV.- CALCULOS Y RESULTADOS

a).- Cálculos.

Tiempos de retención y límites detectables. -

Una vez establecidos los parámetros (Capítulo IV inciso "F"), se procedió a determinar los tiempos de retención de cada pesticida en las dos columnas.

PESTICIDA	TIEMPOS DE RETENCION	
	COLUMNA "A" 4% SE-30/6% OV-210	COLUMNA "B" 1.5% OV-17/1.95 QF-1
HEXAFLOROBENCENO	3.38 min.	2.26 min.
ALFA BHC	3.61 "	2.49 "
LINDANO	4.44 "	3.20 "
BETA-BHC	4.54 "	3.69 "
HEPTACLORO	6.19 "	3.91 "
ALDRIN	7.57 "	4.74 "
OCTACLORO-EPOX.	10.13 "	6.60 "
HEPTACLORO-EPOX.	10.91 "	7.34 "
TRANS-NONACLOR	12.68 "	8.43 "

P, P' - DDE	13.89 min.	10.77 min.
DIELDRIN	16.23 "	11.39 "
O, P- DDT	18.21 "	15.23 "
P, P' - DDD	19.97 "	16.63 "
P, P' - DDT	24.03 "	20.11 "

También se establecieron los límites de detección así como los rangos de linealidad los cuales se presentan en la sig. tabla:

TABLA No. V
 RANGOS DE LINEARIDAD

PESTICIDA	LIMITE		LIMITE	
	MINIMO DETECTABLE COLUMNA "A" "B"	COLUMNA "B"	MAXIMO DETECTABLE COLUMNA "A" LUMNA "B"	CO - LUMNA "B"
HEXACLOROBENCENO	1.0 pg	1.0 pg	128 pg	108 pg.
ALFA -BHC	1.0 "	1.0 "	130 "	112 "
LINDANO	2.0 "	2.0 "	146 "	122 "
BETA-BHC	2.0 "	2.0 "	156 "	132 "
HEPTACLORO	2.0 "	2.0 "	180 "	140 "
ALDRIN	3.0 "	3.0 "	198 "	162 "
OCTACLORO EPOX.	4.0 "	2.0 "	218 "	182 "
HEPTACLORO EPOX.	4.0 "	4.0 "	228 "	196 "
TRANS-NONACLOR	5.0 "	3.0 "	232 "	210 "
P,P' - DDT	5.0 "	6.0 "	252 "	230 "
DIELDRIN	6.0 "	9.0 "	270 "	230 "
O, P-DDT	10.0 "	13.0 "	296 "	268 "
P,P' -DDD	8.0 "	10.0 "	332 "	258 "
P,P' - DDT	10.0 "	7.5 "	484 "	370 "

Packard

DATE 2-Sept-76

SAMPLE PESTICIDAN QUANTALIN 2500

MEZOLIS A.Y.B. 1 mg/ml

COLUMN SIZE/PACKING 1.20 in x 4 mm x 4% SE30

16% OV-210 on G43 Chrom G 20-100 mesh

TEMPERATURE °C

INLET 225 DET. 300 OUT

COLUMN 200 250°C

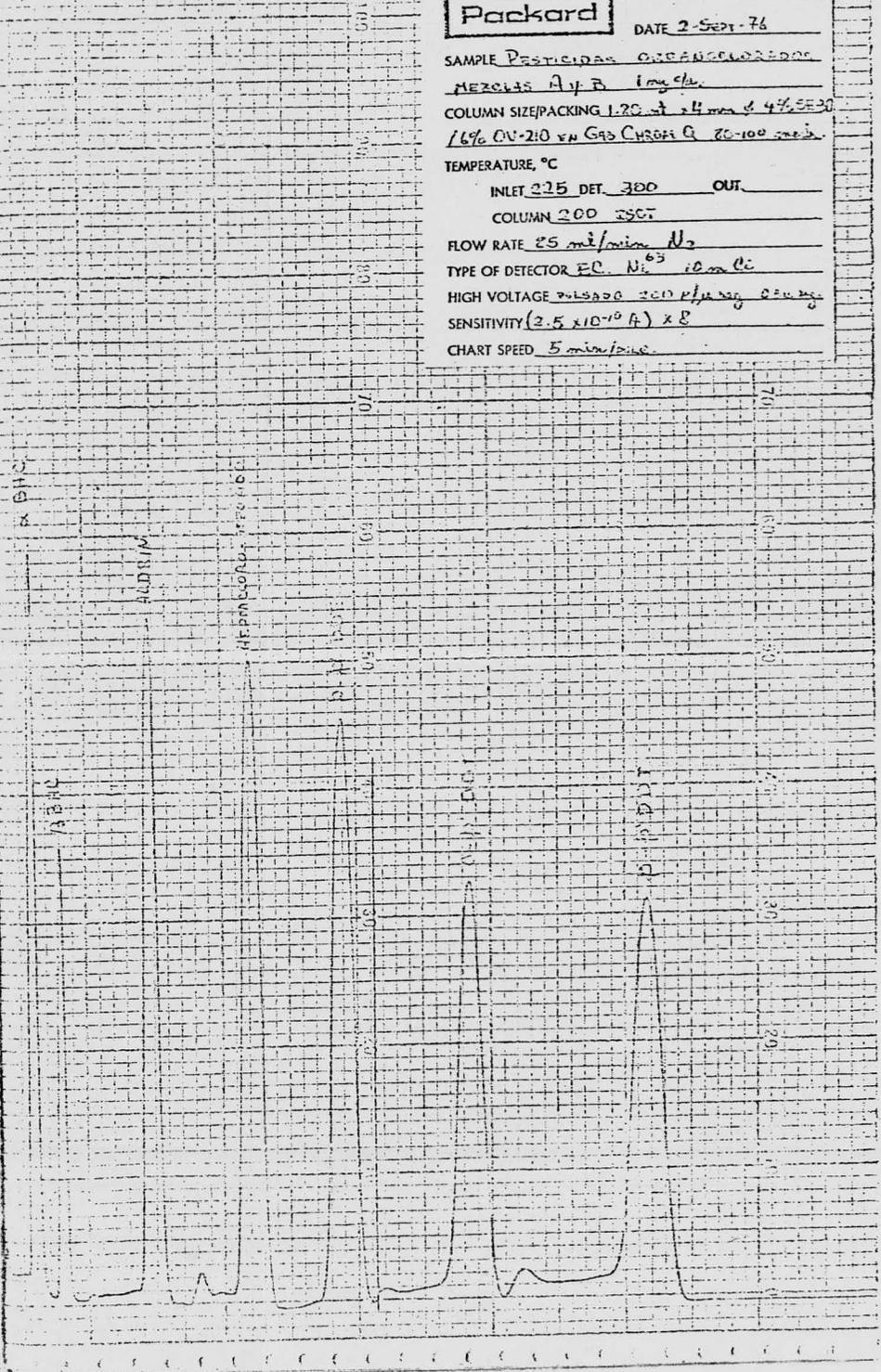
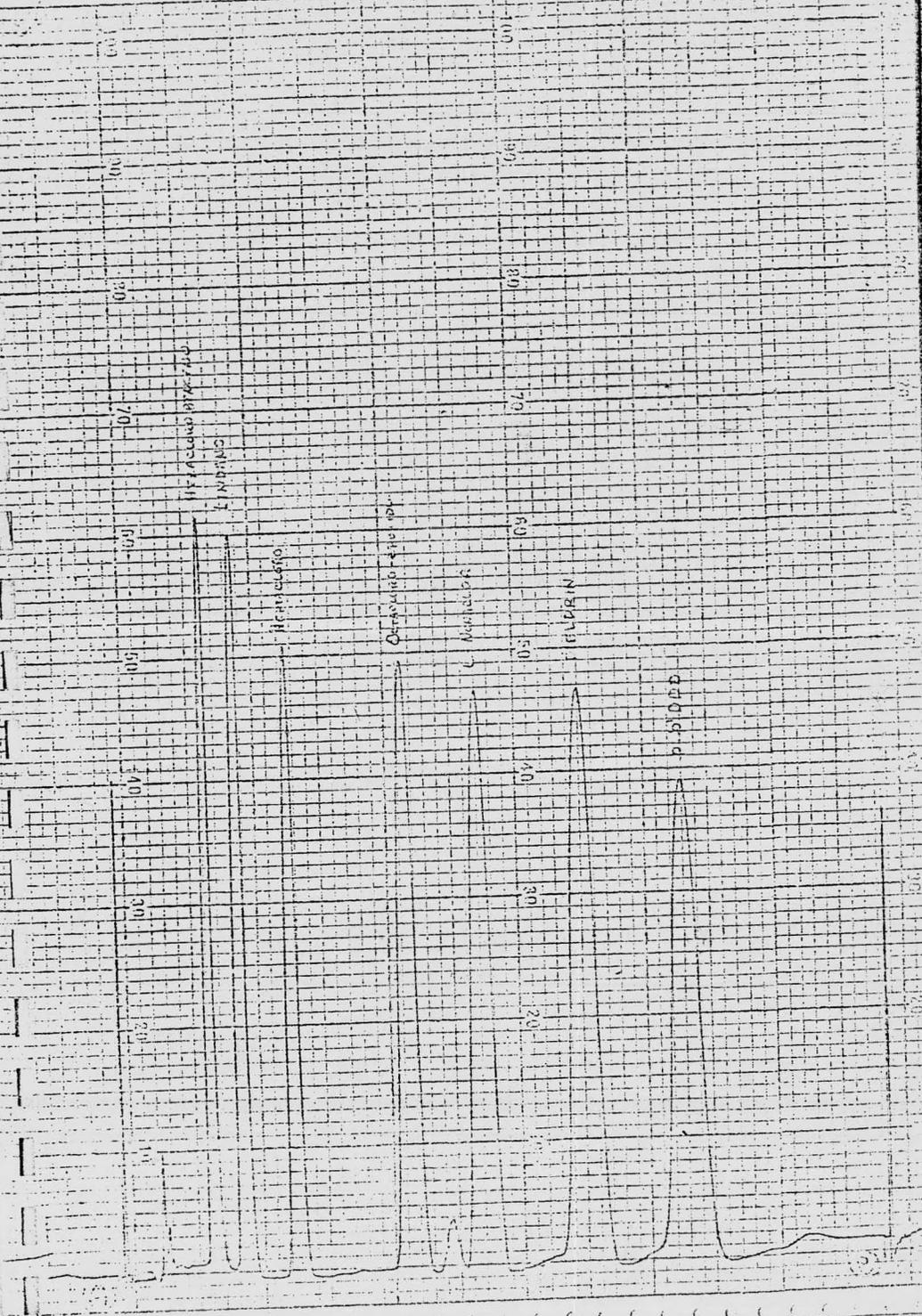
FLOW RATE 25 ml/min N₂

TYPE OF DETECTOR EC Ni⁶³ 10 m Ci

HIGH VOLTAGE 2000 200 p.p.m. 2000 V

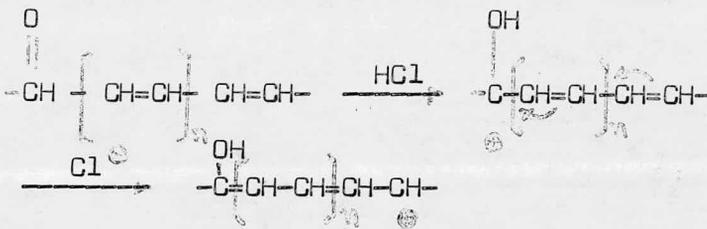
SENSITIVITY (2.5 x 10⁻¹⁰ A) x 8

CHART SPEED 5 min/inch



Los ceto-polienos formados son causantes también del oscurecimiento del PVC degradado, ya que sales de este tipo, por si mismas, tienen color oscuro aunque la secuencia polieno sea corta.

Los ceto-polienos forman sales de onio debido a la presencia de ácido clorhídrico que se está liberando, lo que produce un efecto semiconductor encontrado en el PVC cuando está sujeto a la acción del calor:



1.3 Fotodegradación fotoquímica

La degradación fotoquímica del PVC puede ser discutida de igual modo en relación a la degradación térmica, debido a que estos procesos son altamente conocidos y varias reacciones fundamentales ocurren mediante el mismo mecanismo formándose polienos y: HCl:

Packard

DATE 3-20-76

SAMPLE PESTICIDES ORGANOCHEMICALS

HEPTACHLOR A & B 1 mg/g

COLUMN SIZE/PACKING 1.8m x 4mm d 1.5% OV

1.95% OV/210 m Gas Chrom C 100/100 mesh

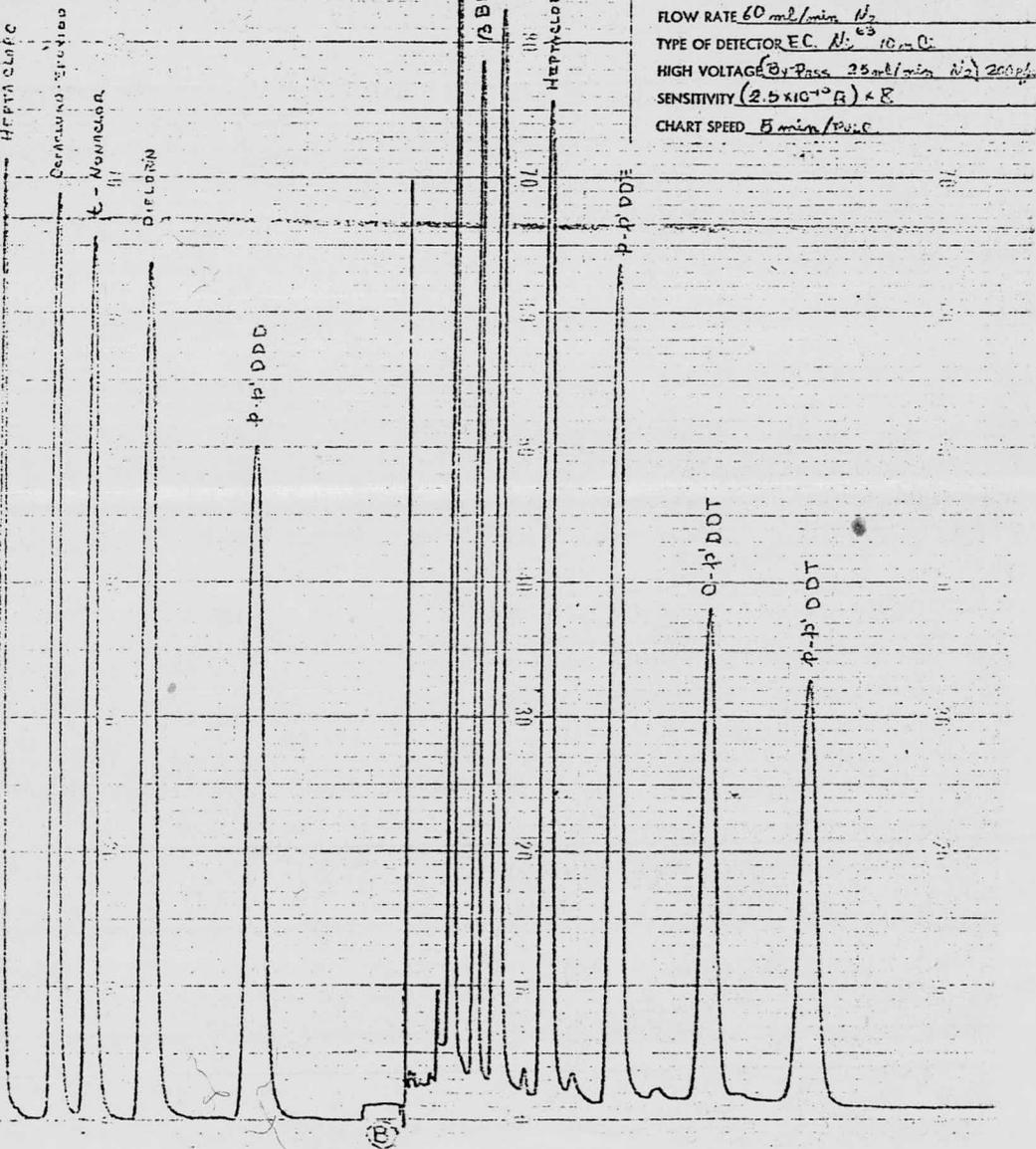
TEMPERATURE, °C

INLET 225 DET. 300 OUT.

COLUMN 200 ISOT.

FLOW RATE 60 ml/min N₂TYPE OF DETECTOR EC N₂⁶³ 10 m CHIGH VOLTAGE (By Pass 25 ml/min N₂) 2000VSENSITIVITY (2.5 x 10⁻¹⁰ A) x R

CHART SPEED 5 min/Div

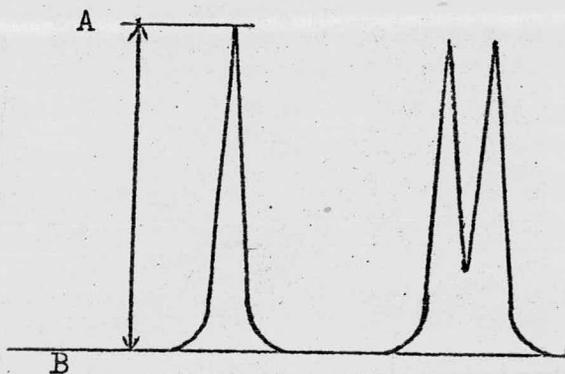


El análisis cualitativo de los extractos fue efectuado midiendo los tiempos de retención de cada pico y relacionándolo con los picos de los estándares.

El análisis cuantitativo se efectuó midiendo el área bajo la curva.

Existen tres formas de calcular dicha área — manualmente.

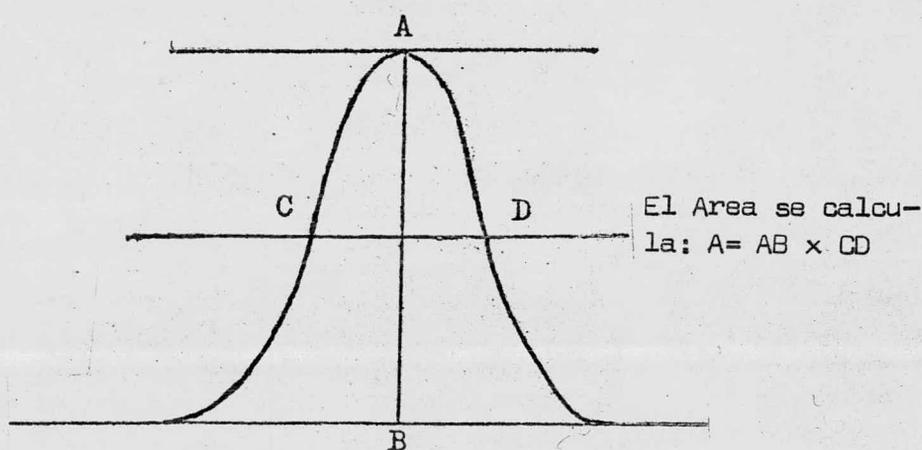
1.- Midiendo la altura del pico de cada pesticida.



Como cada pico va a tener un ancho definido de pendiendo del tiempo de retención de cada pesticida se va a considerar despreciable la medida del ancho del pico. Esto es conveniente sobre tódo para cuando los tiem

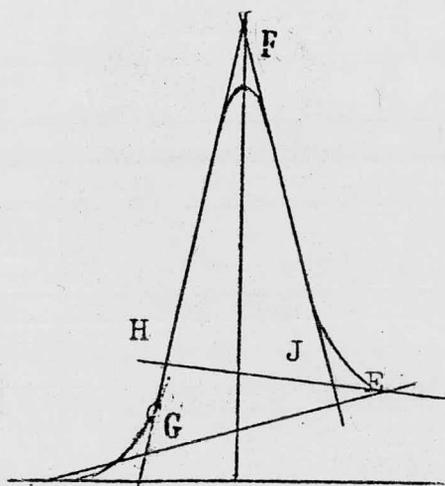
pos de retención de los componentes de la mezcla sean tan cortos que el ancho de la base sea casi despreciable.

2.- Midiendo la altura del pico y a la mitad de la altura al ancho del pico.



Nos da una mayor exactitud en el cálculo de la concentración y siempre que se pueda medir CD es el método conveniente.

3.- Método de triangulación: Se traza una base al iniciarse el pico, en seguida se traza una perpendicular a esta línea que pase por el punto más alto del pico, se trazan unas tangentes a cada lado de la curva y unas perpendiculares a dichas tangentes que pasen los puntos de iniciación y terminación del pico.



El área se va a calcular: $A = \frac{1}{2} (FG) (JH)$

Esta técnica para el cálculo del área es muy útil en los casos donde la línea base no es muy estable.

Con los adelantos en el campo de la electrónica hoy en día se puede calcular esta área bajo la curva mediante integradores o computadoras. En este estudio se tuvo la facilidad de que el cromatógrafo estaba conectado a una terminal de una computadora. Por lo que los resultados se obtuvieron directamente en picogramos.

Cálculos para la determinación de lípidos.

Lo ilustramos con un ejemplo.

peso de la muestra = 7 g.

Dilución = 0.2 (porque se tomó una alícuota de 20 ml. - para lípidos, lo que representa el 20% del total de la muestra).

Multiplicando la cantidad de muestra por la disolución vamos a tener la cantidad de muestra usada - para lípidos.

$$7 \times 0.2 = 1.4 \text{ (usados para lípidos).}$$

Po = 31.80437 (peso del vaso antes de agregarle la alícuota).

P1 = 31.84175 (peso del vaso con la alícuota después de haberlo dejado a una temperatura de 37°C).

- 31.84175

31.80437

00.03738 (cantidad de lípidos presente en el 20% de la muestra).

Si dividimos la cantidad de lípidos obtenida -

entre los gramos de muestra usados para lípidos y multiplicamos este resultado por 100 obtendremos el % de lípidos presente en la muestra.

$$\frac{0.03738}{1.4} = 0.0267$$

2.67% de lípidos.

Cálculos para determinar la concentración de las muestras.

Para calcular la concentración manualmente se usará como ejemplo la misma muestra.

Peso de la muestra = 7g

Peso de los lípidos = 1.4 g

$7 - 1.4 = 5.6$ g (gramos de muestra en los cuales se determinó la concentración de los pesticidas ya que se eliminaron 1.4 g para lípidos).

Como para inyectarse el extracto de la muestra se aforó a 5 ml, la concentración de nuestra muestra va a ser:

$$\frac{5.6 \text{ g}}{5.0 \text{ ml}} = 1.12 \text{ g/ml.} = 1.12 \text{ mg/}\mu\text{l}$$

Para poder calcular la concentración de esta muestra primero tenemos que inyectar el estandar y calcular los factores de respuesta para cada uno de los pesticidas, ya que estos nos van a servir para calcular la concentración de la muestra.

Cálculos de la mezcla estandar.

Ej. HEXACLOROBENCENO

Concentración del estandar = 4 pg/ul

Volumen de inyección = 5.8 ul

altura del pico = 144 mm.

$$4 \times 5.8 = 23.2$$

$$\frac{23.2}{144} = 0.1611 \text{ (factor de respuesta para el HEXACLOROBENCENO).}$$

Los factores de respuesta para cada uno de los 14 pesticidas estudiados se presentan en la siguiente tabla.

FACTORES DE RESPUESTA PARA CADA UNO DE LOS PESTICIDAS DE TERMINADOS EN ESTE ESTUDIO MEDIDOS EN UN CROMATOGRFO DE GASES PACKARD MODELO 421 DURANTE EL AÑO DE 1977.

	PESTICIDA	C est	V_1	H _p	F resp.
HCB		4 pg/ μ l	5.8 μ l	144mm.	0.1611
-BHC		" "	"	53 "	0.4377
	LINDANO	" "	"	90 "	0.2577
-BHC		10 "	"	93 "	0.6236
	HEPTACLORO	4 "	"	80 "	0.2900
	ALDRIN	" "	"	56 "	0.4142
	OCTACLORO				
	EPOXIDO	" "	"	45 "	0.5155
	HEPTACLORO				
	EPOXIDO	" "	"	43 "	0.5395
	TRANS-				
	NONACLOR	" "	"	43 "	0.5395
	P, P'-DDE	10 "	"	77 "	0.7532
	DIELDRIN	8 "	"	58 "	0.8000
	O, P-DDT	20 "	"	63 "	1.7846
	P, P'-DDD	" "	"	68 "	1.7058
	P, P'-DDT	" "	"	60 "	1.9333

C_{est} = Concentración del estándar.

V_1 = Volumen de inyección.

H_p = Altura del pico originado por el estándar.

F_{resp} = Factor de respuesta del pesticida.

DETERMINACION MANUAL DE LA CONCENTRACION

DE LOS PESTICIDAS EN LA MUESTRA

Se inyecta al cromatógrafo de gases exactamente los mismos microlitros de muestra que lo que se inyectó del estándar.

Una vez obtenido el cromatograma de la muestra, se mide la altura de aquellos picos cuyos tiempos de retención sean iguales a los de los estándares.

La altura de cada pico se multiplica por el factor de respuesta del pesticida a que corresponde y se divide entre el peso de la muestra expresado en gramos (al que se le ha restado previamente el peso de los lípidos).

Ejemplo:

BETA - BHC

Factor de respuesta = 0.6236

altura del pico = 48 mm.

peso de la muestra = 6.496 mg.

concentración = $\frac{48 \times 0.6236}{6.496} = 6.8087$ p.p.b.

La concentración va a quedar expresada en p.p.b. (partes por billón).

A continuación se presentan los resultados -
obtenidos para la muestra N. 1 la cual fue calculada -
tanto manualmente como usando la computadora.

OCTACLORO-EPOXIDO:

Factor de respuesta = 0.5155

Altura del pico = 5 mm.

Peso de la muestra = 6.496 mg (igual para --
todos los pes
ticidas siem-
pre que se tra
te de la misma
muestra).

Concentración: $\frac{0.5155 \times 5 \text{ mm.}}{6.496 \text{ mg.}} = 0.3967 \text{ p.p.b.}$

HEPTACLORO EPOXIDO:

Factor de respuesta = 0.5395

Altura del pico = 4 mm.

Peso de la muestra = 6.496 mg.

Concentración: $\frac{4 \times 0.5395}{6.496} = 0.3322 \text{ p.p.b.}$

TRANS-NONACLOR:

Factor de respuesta = 0.5395

Altura del pico = 3 mm.

Concentración: $\frac{3 \times 0.5395}{6.496} = 0.2491$ p.p.b.

P,P' - DDE

Factor de respuesta = 0.7532

Altura del pico = 187 mm.

Concentración: $\frac{187 \times 0.7532}{6.496} = 21.682$ p.p.b.

O,P' -DDT

Factor de respuesta = 1.7846

Altura del pico = 3 mm.

Concentración: $\frac{3 \times 1.7846}{6.496} = 21.682$ p.p.b.

P,P' - DDD:

Factor de respuesta = 1.7048 p.p.b.

Altura del pico = 4 mm.

Concentración: $\frac{4 \times 1.7058}{6.496} = 1.0503$

P,P' - DDT:

Factor de respuesta = 1.9333

Altura del pico = 36 mm.

Concentración: $\frac{36 \times 1.9333}{6.496} = 10.7141$ p.p.b.

DIELDRIN:

Factor de respuesta = 0.8000

Altura del pico = 12 mm.

Concentración: $\frac{12 \times 0.80}{6.496} = 1.3546$ p.p.b.

Como el dieldrin aparece en la fracción de elución del 15 por ciento en ocasiones podemos tener diferente volumen de inyección así como volumen de muestra que para los otros pesticidas.

CALCULOS PARA DETERMINAR LA CONCENTRACION DE
LA MUESTRA POR MEDIO DE LA COMPUTADORA

Como los resultados dados por la computadora - vienen expresados en picogramas de pesticidas presentes en el volumen de muestra inyectada. La concentración en p.p.b. (partes por billón), se calcula dividiendo los — gramos de muestra procesada (5.6 g) entre el volumen al cual se aforó la muestra (5.0 ml) y este se va a multi - plicar por el volumen de la inyección (5.8 ul).

$$\frac{5.6}{5.0} = 1.12 \text{ g/ml.}$$

$$1.12 \times 5.8 \text{ ul} = 6.496 \text{ mg}$$

Cuyo valor es igual para todos los pesticidas - presentes en la muestra. Vamos a usar el mismo ejemplo - que en el caso anterior para después poder comparar los - resultados obtenidos por ambos métodos.

BETA-BHC:

Concentración en picogramas = 29.93 pg.

$$\frac{29.93}{6.496} = 4.6074 \text{ p.p.b.}$$

OCTACLORO EPOXIDO:

Concentración en picogramos = 2.5769 pg

$$\frac{2.5769}{6.496} = 0.3966 \text{ p.p.b.}$$

HEPTACLORO EPOXIDO

Concentración en picogramos = 2.1579 pg.

$$\frac{2.1579}{6.496} = 0.3321 \text{ p.p.b.}$$

TRANS-NONACLOR:

Concentración en picogramos = 1.608 pg.

$$\frac{1.6081}{6.496} = 0.2475 \text{ p.p.b.}$$

O,P' - DDT:

Concentración en picogramos = 5.3533 pg.

$$\frac{5.3533}{6.496} = 0.8240 \text{ p.p.b.}$$

P,P' -DDD:

Concentración en picogramos = 69.5812

$$\frac{69.5812}{6.496} = 10.7113 \text{ p.p.b.}$$

DIELDRIN:

Concentración en picogramos = 8.840 pg

$$\frac{8.840}{6.496} = 1.3808 \text{ p.p.b.}$$

Si comparamos estos valores con los obtenidos por el método manual, se puede observar que casi son -- idénticos, y solo se observan variaciones en la tercera y cuarta cifra decimal.

CALCULOS PARA LA MEZCLA PATRON.

Agregamos a la muestra un ml. de la mezcla patrón que contenía: BETA/BHC 40 ng/ml. Oxiclordano 40 ng/ml. Heptacloro 40 ng/ml. P.P' DDE 400 ng/ml, P,P' -DDT - 400 ng/ml, y Dieldrín 200 ng/ml. pero como se tomó el 20% de la muestra para determinación de lípidos por lo tanto se tiene:

HEPTACLORO:

Se agregaron 40 ng/ml = 40 pg/ μ l - 8 pg (que se quitaron para lípidos).

Por lo tanto se agregaron 32 pg.

Como la muestra se aforó a 5 ml.

se tiene:

$$\frac{32}{5} = 6.4 \text{ ng/ml} = 6.4 \text{ pg}/\mu\text{l}$$

Como se inyectaron 5.8 μ l

Se tiene: 6.4 x 5.8 μ l = 37.12 pg.

Para calcular la concentración en p.p.b. se divide entre el peso de la muestra inyectada.

$$\frac{37.12}{6.496} = 5.714 \text{ p.p.b.}$$

BETA-BHC Y OXICLORDANO (Octacloro epóxido)

Como la mezcla patrón tiene la misma cantidad - de estos insecticidas, los cálculos para determinar la concentración van a ser exactamente los mismos que para el HEPTACLORO.

P,P' -DDE y P,P' -DDT:

Agregamos a la muestra 400 ng de cada uno pues to que la concentración de estos estándares en la mezcla patrón es de 400 ng/ml. de ésta.

menos el 20% que se tomó para lípidos:

se tiene:

400 ng - 80 ng (que se quitaron para lípidos)

400 - 80 = 320 ng.

Como se aforó a 5 ml.

se tiene:

$$\frac{320 \text{ ng}}{5 \text{ ml}} = 64 \text{ ng/ml} = 64 \text{ pg}/\mu\text{l}$$

Se inyectaron 5.8 μl , por lo tanto:

se tiene:

$$64 \text{ pg}/\mu\text{l} \times 5.8 \text{ ul} = 371.2 \text{ pg.}$$

Si dividimos entre el peso de la muestra inyec
tada vamos a tener:

$$\frac{371.2 \text{ pg}}{6.496 \text{ mg}} = 57.142 \text{ p.p.b.}$$

DIELDRIN:

Se agregaron 200 ng de dieldrin por las mismas consideraciones ya expuestas, restamos el 20% de la mues
tra.

Por lo tanto tenemos:

$$200 \text{ ng} - 40 \text{ ng} = 160 \text{ ng.}$$

Por el aforo a 5 ml.

$$\frac{160 \text{ ng}}{5 \text{ ml}} = 32 \text{ ng/ml} = 32 \text{ pg}/\mu\text{l}$$

Si se inyectaron 5.8 μl se tiene:

$$32 \times 5.8 = 185.6 \text{ pg.}$$

Si se divide esta valor entre el peso de la -
muestra inyectada se tendrá:

$$\frac{185.6 \text{ pg.}}{6.496 \text{ mg.}} = 28.571 \text{ p.p.b.}$$

Concentración de la muestra con Patrón Interno:

El cromatograma resultante va a presentar los picos originados por los estándares agregados a la muestra además de los que tiene la muestra en sí.

BETA-BHC:

Concentración en picogramos = 64.521 pg.

Peso de la muestra inyectada = 6.496 mg.

$$\frac{64.521}{6.496 \text{ mg.}} = 9.932 \text{ p.p.b.}$$

HEPTACLORO:

Concentración en picogramos = 31.895 pg.

Peso de la muestra inyectada = 6.496 mg.

$$\frac{31.895 \text{ pg}}{6.496 \text{ mg.}} = 4.91 \text{ p.p.b.}$$

OCTACLORO EPOXIDO:

Concentración en picogramos = 37.573 pg

Peso de la muestra inyectada = 6.496 mg.

$$\frac{37.573 \text{ pg}}{6.496 \text{ mg}} = 5.784 \text{ p.p.b.}$$

HEPTACLORO EPOXIDO:

Concentración en picogramos = 2.427 pg

Peso de la muestra inyectada = 6.496 mg.

$$\frac{2.427 \text{ pg}}{6.496 \text{ mg}} = 0.3736 \text{ p.p.b.}$$

TRANS-NONAFLOR:

Concentración en picogramos = 1.627 pg.

Peso de la muestra inyectada = 6.496 mg.

$$\frac{1.627 \text{ pg}}{6.496 \text{ mg}} = 0.25 \text{ p.p.b.}$$

P,P' -DDE:

Concentración en picogramos = 1.627 pg. 500.84

peso de la muestra inyectada = 6.496 mg.

$$\frac{500.84}{6496} \frac{1.627 \text{ pg}}{6.469 \text{ mg}} = 77.099 \text{ p.p.b.}$$

DIELDRIN:

Concentración en picogramos = 172.794 pg

peso de la muestra inyectada = 6.496 mg.

$$\frac{172.794 \text{ pg}}{6.496 \text{ mg}} = 26.60 \text{ p.p.b.}$$

O,P' -DDT:

Concentración en picogramos = 5.3529 pg

Peso de la muestra inyectada = 6.496 mg

$$\frac{5.3529 \text{ pg.}}{6.496 \text{ mg}} = 0.8240 \text{ p.p.b.}$$

P,P' -DDD:

Concentración en picogramos = 5.9698 pg

Peso de la muestra inyectada = 6.496 mg

$$\frac{5.9698 \text{ pg}}{6.496 \text{ mg.}} = 0.9189 \text{ p.p.b.}$$

Para calcular la recuperación solo se tomarán en cuenta los picos originados por los estándares presentes en la mezcla patrón.

RECUPERACION

Se restará la concentración dada por la muestra sin patrón de la concentración de la muestra con patrón interno.

BETA-BHC:

Concentración de la muestra con patrón = 9.9328
p.p.b.

Concentración de la muestra sin patrón = 4.6078
p.p.b.

$9.9328 - 4.6078 = 5.325$ p.p.b.

Si dividimos entre la concentración de este mismo estándar en la mezcla patrón y multiplicamos por 100 vamos a obtener el % de recuperación.

Concentración del estándar en el mezcla patrón
= 5.714.

$\frac{5.325 \text{ p.p.b.}}{5.714 \text{ p.p.b.}} = 89.69 \%$

HEPTACLORO:

Conc. de la muestra sin patrón interno = 0.0

Conc. de la muestra con patrón interno = 4.9107
p.p.b.

Conc. de el estándar en la mezcla patrón = - -
5.714 p.p.b.

$$\frac{4.9107 - 0.0}{5.714} = 85.94\%$$

OCTACLORO EPOXIDO:

Conc. de la muestra sin patrón interno = 3.3967
p.p.b.

Conc. de la muestra sin patron interno = .7840
p.p.b.

Conc. de el estándar en la mezcla patrón 5.714
p.p.b.

$$\frac{5.7840 - 0.3967}{5.714} = 94.28\%$$

DIELDRIN:

Conc. de la muestra sin patrón interno = 1.3546
p.p.b.

Conc. de lamuestra con patron interno = 26.60
p.p.b.

Conc. de el estándar en la mezcla patrón =
28.571 p.p.b.

$$\frac{26.60 - 1.3546}{28.571} = 88.36 \%$$

P,P' -DDE:

Conc. de la muestra sin patrón interno = 21.682
p.p.b.

Conc. de la muestra con patron interno = 77.10
p.p.b.

Conc. de el estándar en la mezcla patrón = —
57.142 p.p.b.

$$\frac{77.10 - 21.682}{57.142} = 96.98 \%$$

P,P' -DDT:

Conc. de la muestra sin patrón interno =
10.7141 p.p.b.

Conc. de la muestra con patrón interno =
62,498 p.p.b.

Conc. de el estándar en la mezcla patrón =
57.142 p.p.b.

$$\frac{62.298 - 10.7141}{57.142} = 90.62 \%$$

Todos estos resultados están dados en relación a muestra total pero en algunos trabajos reportados en la literatura las concentraciones están dadas en P.P.B en relación a la cantidad de lípidos presente en la muestra. Para obtener este resultado es necesario dividir 100 entre el % de lípidos y el resultado multiplicarlo por la concentración obtenida en base a muestra total.

Ejemplo: Muestra No. 1

% de lípidos = 2.67%

$$\frac{100}{2.67} = 37.45$$

Beta-BHC = 4.6078 x 37.45 = 172.562 P.P.B. en base a lípidos.

TABLA NO. VII

Para la muestra No. 1 se obtuvieron los sig. valores:

PESTICIDA	CALCULO MANUAL	CALCULO POR COMPUTA DORA.
BETA-BHC	172.562 p.p.b.	172.547 p.p.b.
OCTACLORO EPOXIDO	14.856 p.p.b.	14.852 p.p.b.
HEPTACLORO EPOXIDO	12.441 p.p.b.	12.437 p.p.b.
TRANS- NONACLOR	9.3287 p.p.b.	9.3287 p.p.b.
P,P' -DDE	811.990 p.p.b.	811.327 p.p.b.
O,P' -DDT	30.862 p.p.b.	30.858 p.p.b.
P,P' -DDD	39.333 p.p.b.	39.371 p.p.b.
P,P' -DDT	401.240 p.p.b.	401.138 p.p.b.

A continuación se presentan a manera ilustrativa los -
cromatogramas de la muestra No. 1.

V Iny

HC.B. (144 mm)

LINDANO (90 mm)

HEPTACLORO (80 mm)

OCTACLORO EPOXIDO (45 mm)

TRANS NONACLOR (43 mm)

DIELDRIN (58 mm)

PP-BDD (68 mm)

V Iny

α -BHC (63 mm)

β -BHC (93 mm)

ALDRIN (56 mm)

HEPTACLORO EPOXIDO (43 mm)

PP DDE (77 mm)

OP DDT (63 mm)

PP DDT (60 mm)

MUESTRA: Izquierda Mezcla A., Derecha Mezcla B.

COLUMNA: 6 pies de longitud y 4 mm.

D.I. empaçada con 1.5% OV 17/1.95%

QI-1 sobre Gas Chromatog

TEMPERATURA °C: INYECTOR = 225

COLUMNA = 200 DETECTOR = 300

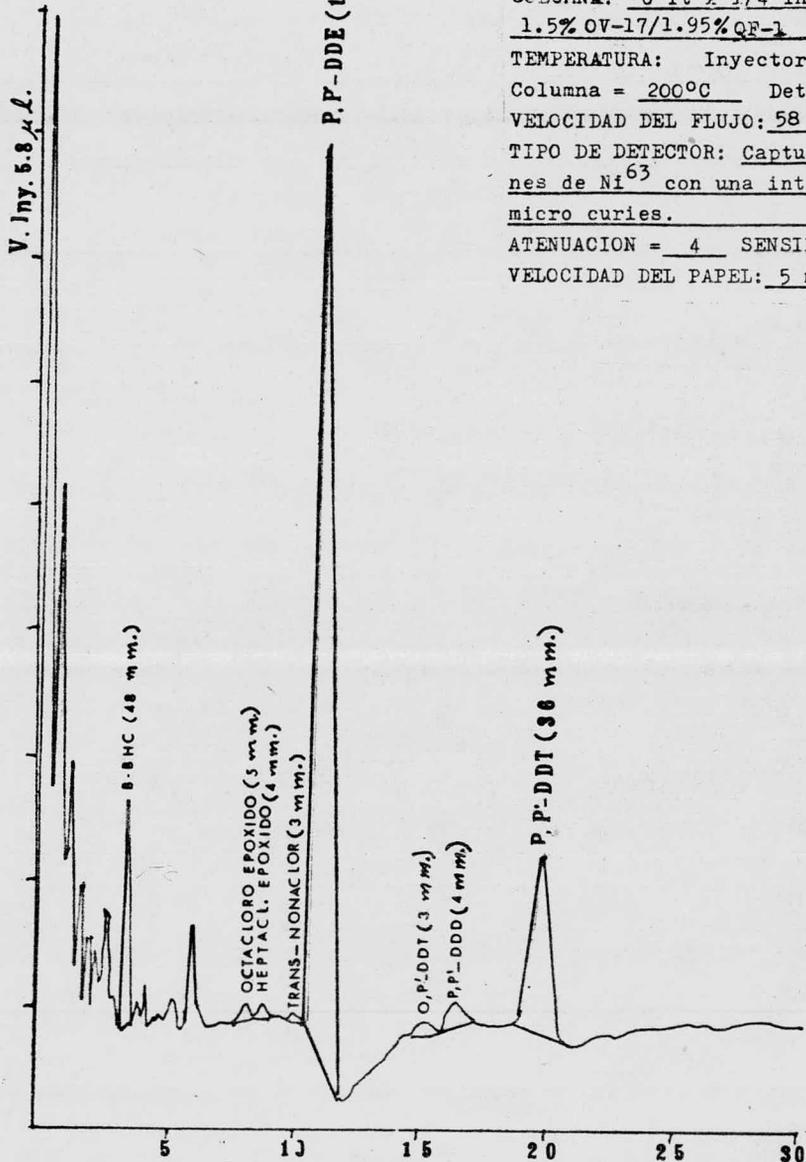
VELOCIDAD DE FLUJO 58 ml/min de N₂

TIPO DE DETECTOR De Captura de elec-

trones Ni⁶³ con 10 mci (micro curie)

ARRANQUE: 4 SENSIBILIDAD 10

VELOCIDAD DEL PAPEL: 5 min./pulg.



CROMATOGRARO DE GASES: PACKARD 421

MUESTRA: N^o1, Fracción 6%

COLUMNA: 6 ft X 1/4 in empacada con 1.5% OV-17/1.95% QF-1

TEMPERATURA: Inyector = 225°C

Columna = 200°C Detector = 300°C

VELOCIDAD DEL FLUJO: 58 ml/min. de N₂

TIPO DE DETECTOR: Captura de Electrones de Ni⁶³ con una intensidad de 10 micro curies.

ATENUACION = 4 SENSIBILIDAD = 10

VELOCIDAD DEL PAPEL: 5 min/pulg.

CROMATOGRAFO DE GASES: PACKARD 421

MUESTRA: Nº1 Fracción 15%

COLUMNA: 6ft X 1/4 in. empacada con 4% SE-30/6% OV-210 sobre Gas Ckrom "Q"

TEMPERATURA: Inyector = 225°C

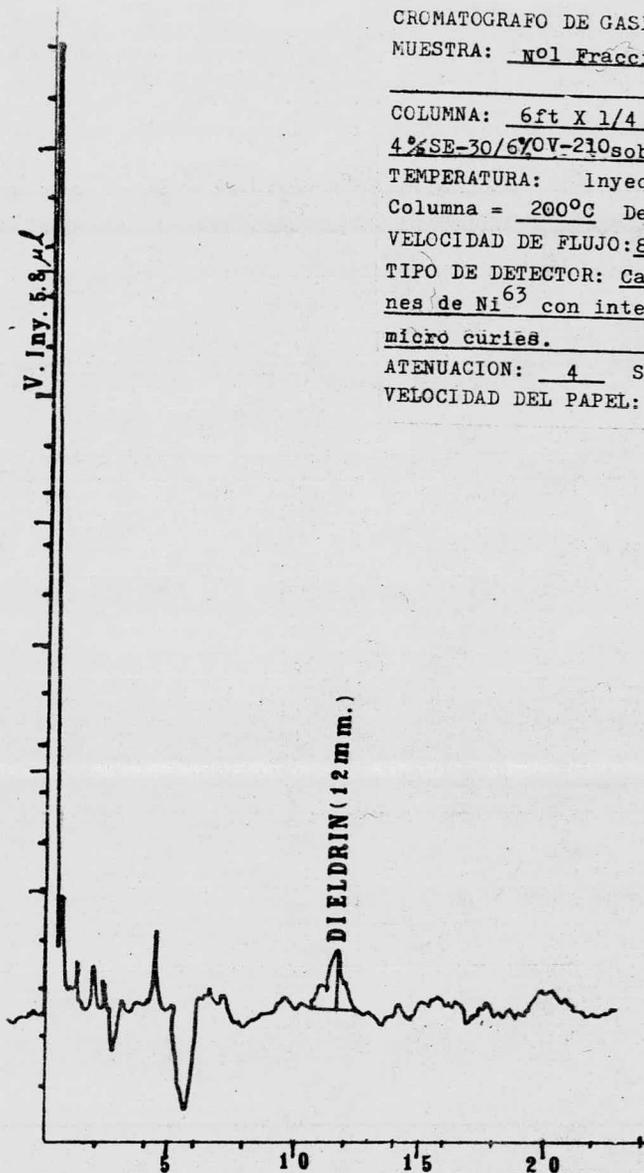
Columna = 200°C Detector = 300°C

VELOCIDAD DE FLUJO: 81 ml/min. de N₂

TIPO DE DETECTOR: Captura de Electrones de Ni⁶³ con intensidad de 10 mCi micro curies.

ATENUACION: 4 SENSIBILIDAD: 10

VELOCIDAD DEL PAPEL: 5 min./pulg.



114-3

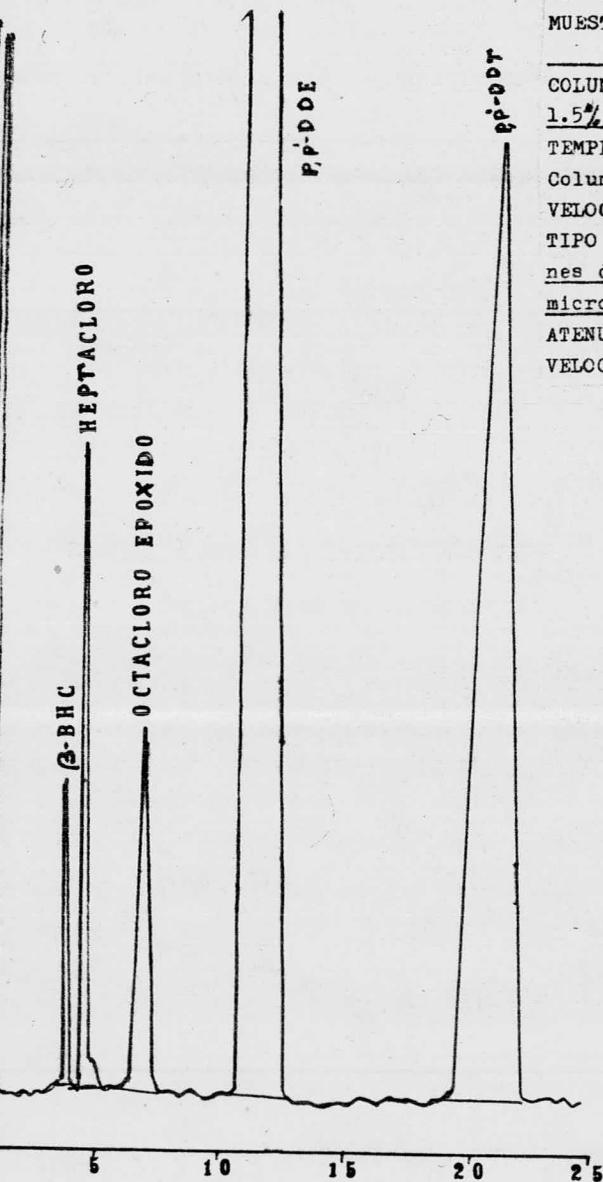
CROMATOGRAFO DE GASES: PACKARD 421

MUESTRA: Patrón Interno

COLUMNA: 6 ft X 1/4 in empacada con
1.5% OV-17/1.95% QF-1

TEMPERATURA: Inyector = 225°C
Columna = 200°C Detector = 300°C
VELOCIDAD DEL FLUJO: 58 ml/min. de N₂
TIPO DE DETECTOR: Captura de Electro-
nes de Ni⁶³ con una intensidad de 10
micro curies.

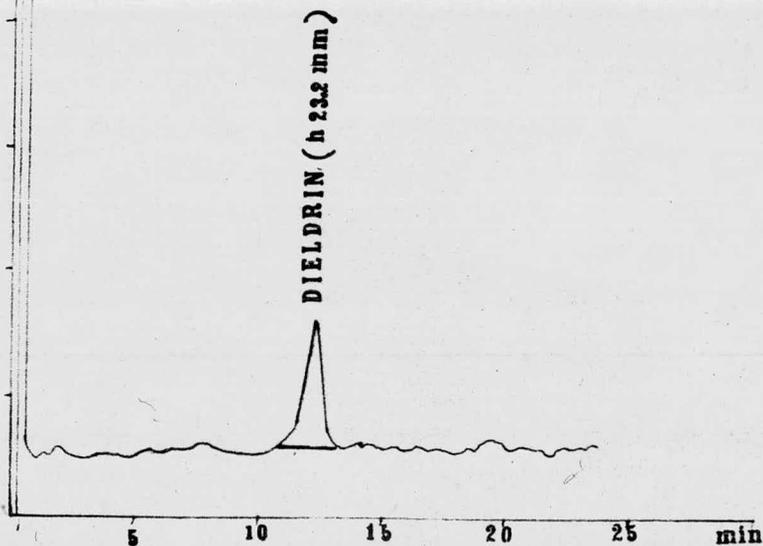
ATENUACION = 4 SENSIBILIDAD = 10
VELOCIDAD DEL PAPEL: 5 min/pulg.



CROMATOGRAFO DE GASES: PACKARD 421
MUESTRA: NO1 (con Patrón Interno)
Fracción 15% dilución 1:10
COLUMNA: 6ft X 1/4 in. empacada con
4%SE-30/6% QV-210 sobre gas Chromat
TEMPERATURA: Inyector = 225°C
Columna = 200°C Detector = 300°C
VELOCIDAD DE FLUJO: 81 ml/min. de N₂
TIPO DE DETECTOR: Captura de Electrones de Ni⁶³ con intensidad de 10 mCi
micro curies.
ATENUACION: 4 SENSIBILIDAD: 10
VELOCIDAD DEL PAPEL: 5 min./pulg.

116

V Iny 5.8 µl



CROMATOGRAFO DE GASES: PACKARD 421

MUESTRA: Patrón Interno dilución

1:10

COLUMNA: 6ft X 1/4 in. empacada con
1.5% OV-17/1.95% QF-1

TEMPERATURA: Inyector = 225°C

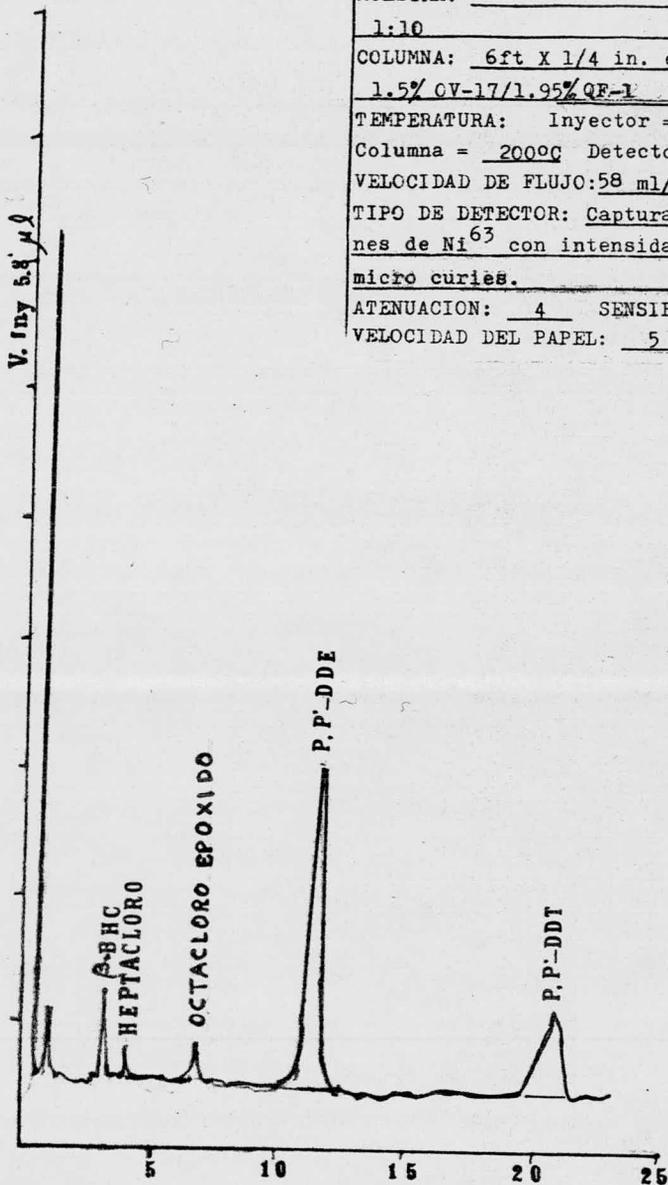
Columna = 200°C Detector = 300°C

VELOCIDAD DE FLUJO: 58 ml/min. de N₂

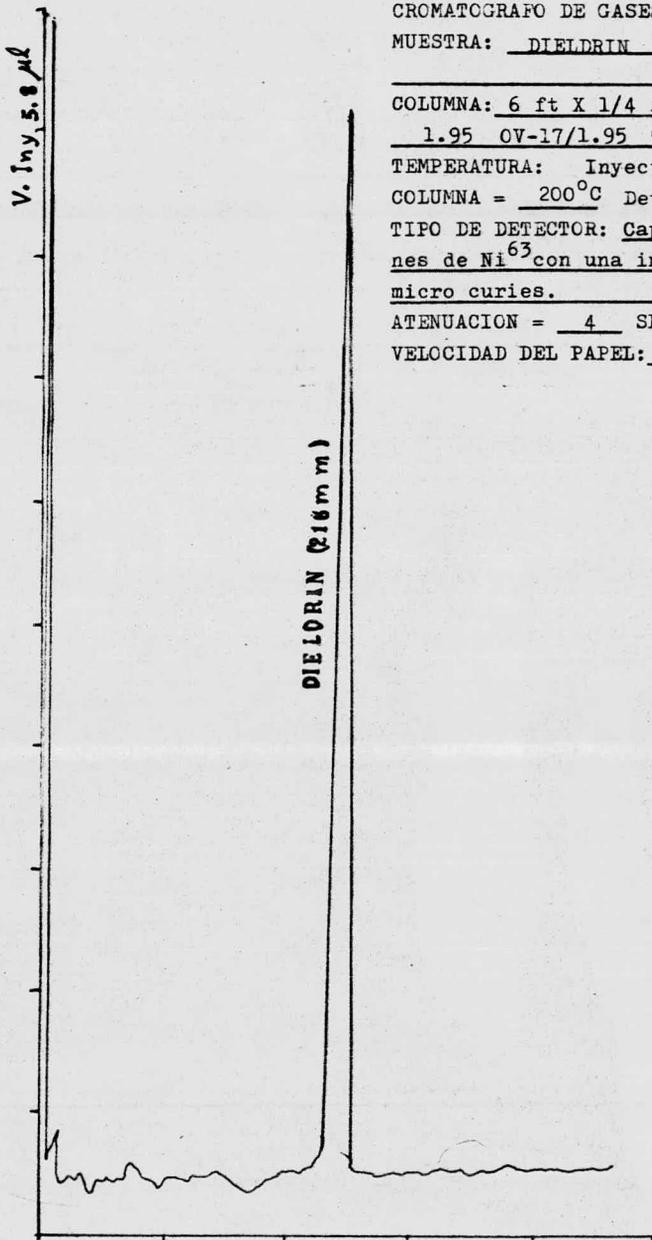
TIPO DE DETECTOR: Captura de Electrones de Ni⁶³ con intensidad de 10 mCi
micro curies.

ATENUACION: 4 SENSIBILIDAD: :10

VELOCIDAD DEL PAPEL: 5 min./pulg.



117



CROMATOGRAFO DE GASES: PACKARD 421

MUESTRA: DIELDRIN 200 pg/ul

COLUMNA: 6 ft X 1/4 in. empacada con 1.95 OV-17/1.95 QF-110

TEMPERATURA: Inyector = 225°C

COLUMNA = 200°C Detector = 300°C

TIPO DE DETECTOR: Captura de Electrones de Ni⁶³ con una intensidad de 10 - micro curies.

ATENUACION = 4 SENSIBILIDAD = 10

VELOCIDAD DEL PAPEL: 5 min/pulg.

V. Iny 5.8 μ l

7

β -BHC
HEPTACLORO
OCTACLORO EPOXIDO
HEPTACLORO EPOXIDO
TRANS NONACLORO

pp DDE

o,p-DDT
pp DDD

pp-DDT

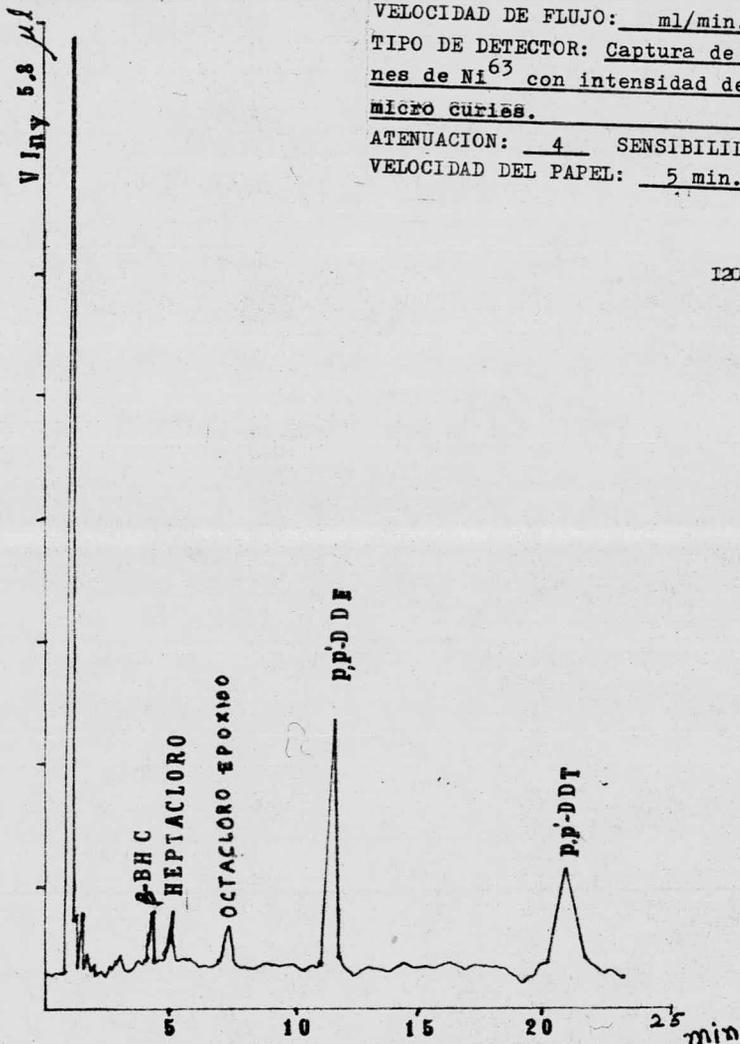
CROMATOGRAFO DE GASES: PACKARD 421
MUESTRA: Nol (con Patrón Interno) Frac
ción 6%
COLUMNA: 6 ft X 1/4 in empacada con
1.5% OV-17/1.95% QE-1
TEMPERATURA: Inyector = 225 $^{\circ}$ C
Columna = 200 $^{\circ}$ C Detector = 300 $^{\circ}$ C
VELOCIDAD DEL FLUJO: 58 ml/min. de N₂
TIPO DE DETECTOR: Captura de Electro-
nes de Ni⁶³ con una intensidad de 10
micro curies.
ATENUACION = 4 SENSIBILIDAD = 10
VELOCIDAD DEL PAPEL: 5 min/pulg.

1197

5 10 15 20 25 30 35

119

CROMATOGRAFO DE GASES: PACKARD 421
MUESTRA: Nº1 (con Patrón Interno)
Fracción 6% dilución 1:10
COLUMNA: 6ft X 1/4 in. empacada con
1.5% OV-17/1.95% QF-1
TEMPERATURA: Inyector = 225°C
Columna = 200°C Detector = 300°C
VELOCIDAD DE FLUJO: ml/min. de N₂
TIPO DE DETECTOR: Captura de Electrones de Ni⁶³ con intensidad de 10 mCi
micro curies.
ATENUACION: 4 SENSIBILIDAD: 10
VELOCIDAD DEL PAPEL: 5 min./pulg.



121

CROMATOGRAFO DE GASES: PACKARD 421

MUESTRA: N^o1 (con Patrón Interno)

Fracción 15%

COLUMNA: 6ft X 1/4 in. empacada con
4% SE-30/ 6% OV-210

TEMPERATURA: Inyector = 225°C

Columna = 200°C Detector = 300°C

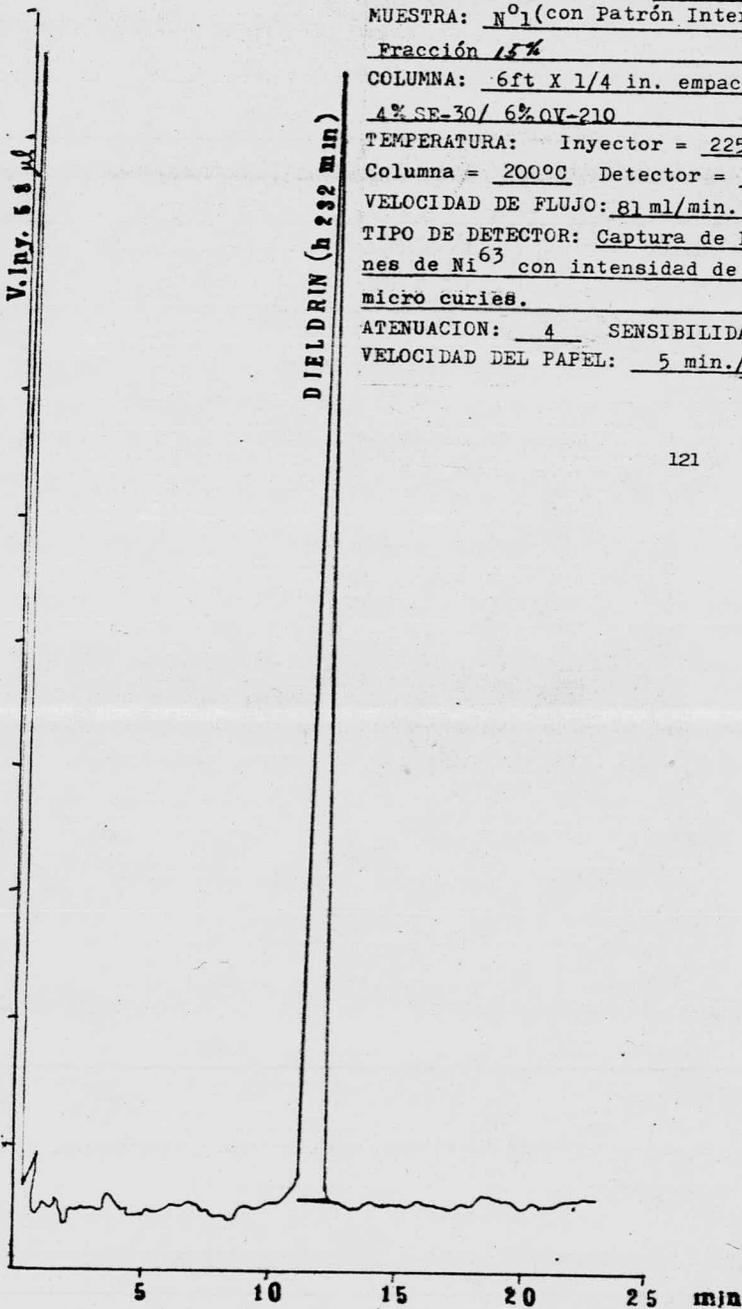
VELOCIDAD DE FLUJO: 81 ml/min. de N₂

TIPO DE DETECTOR: Captura de Electro-
nes de Ni⁶³ con intensidad de 10 mCi
micro curies.

ATENUACION: 4 SENSIBILIDAD: 10

VELOCIDAD DEL PAPEL: 5 min./pulg.

h, mm



RESULTADOS
MUESTRA No. 1

Peso de la Muestra = 7.0 g % de lípidos = 2.67% Vol. de muestra = 5.0 ml Vol. Inyección = 5.8 ul

PESTICIDA	CONC. EN BASE A MUESTRA TOTAL EN P.P.B.			CONC. EN BASE A LIPIDOS EN P.P.B.	
	Muestra con Patrón Interno	Muestra sin Patrón Interno	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	Recuperación
BETA-BHC	4.6078	9.932	172.562	371.953	89.69 %
HEPTACLORO	0.0	4.9107	0.0	185.905	85.94 %
OCTACLORO EPOXIDO	0.3967	5.7840	14.856	216.611	94.28 %
HEPTACLORO EPOXIDO	0.3322	0.3737	12.441	13.995	
TRANS-NONACLOR	0.2491	0.2491	9.3268	9.3288	
P,P'-DDE	21.682	77.10	811.391	2887.395	96.98 %
DIELDRIN	1.3546	26.60	50.730	996.17	88.36 %
O,P'-DDT	0.8241	0.8243	30.863	30.870	
P,P'-DDD	1.0503	0.9190	39.334	34.417	
P,P'-DDT	10.7140	62.498	401.243	2840.550	90.62 %

MUESTRA No. 2

Peso de la Muestra = 7.00g % de lípidos = 4.06% Vol de Muestra = 5.0ml Vol. Inyección = 5.8 ul.

PESTICIDA	CONC. EN BASE A MUESTRA TOTAL EN P.P.B.		CONC. DE LA MUESTRA EN BASE LIPI-		RECUPE RACION
	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	
HCB	0.4410	0.4810	10.861	11.847	
ALFA-BHC	0.8502	0.7573	20.9404	18.652	
LINDANO	0.6062	0.620	14.930	16.270	
HEPTACLORO	0.7486	5.04227	18.438	124.201	88.77 %
OCTACLORO EPOXIDO	2.6539	8.0441	65.365	198.126	94.83 %
HEPTACLORO EPOXIDO	2.2018	2.4356	54.230	59.988	
TRANS- NONACLOR	0.6882	0.8281	16.950	20.396	
P,P' -DDE	79.948	132.719	1969.119	3268.869	92.35 %
DIELDRIN	1,692	23.72	41.673	584.224	77.10 %
P,P'-DDD	0.3512	0.3618	8.650	8.911	
O,P'-DDT	5.4979	7.575	135.413	186.572	
P,P'-DDT	16.784	61.397	413.389	1512.208	78.07 %
BETA-BHC	0.3715	4.925	9.150	121.302	79.69 %

MUESTRA No. 3

Peso de la Muestra = 7.0 g % de lípidos = 7.02% Vol. de Muestra = 5.0 ml. Vol. de Inyección = 5.8 ul

PESTICIDA	CONC. EN BASE A MUESTRA TOTAL EN P.P.B.		CONC. EN BASE A LIPIDOS EN P.P.B.		RECUPERACION
	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	Muestra sin. Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	
HCB	0.745	0.8221	10.613	11.711	
ALFA-BHC	0.687	0.688	9.786	9.800	
LINDANO	0.572	0.582	8.148	8.291	
BETA-BHC	18.288	23.969	260.513	341.438	99.42 %
HEPTACLORO	0.0	4.792	0.0	68.262	83.86 %
OCTACLORO EPOXIDO	2.7937	7.463	39.769	106.310	81.71 %
HEPTACLORO EPOXIDO	3.5226	3.5268	50.179	50.239	
P,P'-DDE	214.888	269.428	3060.966	3038.002	95.44 %
O,P'-DDT	16.159	16.19	230.185	230.627	
P,P'-DDT	81.310	133.426	1158.261	1901.508	91.31 %
DIELDRIN	0.0	20.9024	0.0	297.755	73.15 %

MUESTRA No. 4

Peso de la Muestra = 7.0g % de Lípidos = 4.82 % Vol. de Muestra = 5.0 ml Vol. de Inyección = 5.8 ul

PESTICIDA	CONC. EN BASE A MUESTRA TOTAL EN P.P.B.		CONC. EN BASE A LIPIDOS EN P.P.B.		RECUPERACION
	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	
HCB	0.257	0.550	5.3301	11.407	
ALFA-BHC	0.6657	0.6428	13.806	13.332	
LINDANO	1.4030	1.4052	29.028	29.144	
BETA-BHC	0.6484	6.0481	12.629	125.438	105.84 %
HEPTACLORO	0.000	5.012	6.0	103.999	87.71 %
OCTACLORO EPOXIDO	0.7958	6.2215	16.505	129.034	94.94 %
HEPTACLORO EPOXIDO	1.9599	1.9520	40.648	40.498	
P,P'-DDE	116.527	168.026	2416.769	3484.86	90.12 %
DIELDRIN	0.556	21.286	11.531	441.472	72.55 %
O,P'-DDT	8.744	0.0	181.350	0.0	
P,P'-DDT	51.4596	107.604	1067.272	2231.707	90.93 %

MUESTRA No. 5

Peso de Muestra = 7.0 g % de Lípidos = 1.32 % Vol de Muestra = 5.0 ml Vol Inyección = 5.7 ul

PESTICIDA	COND. EN BASE A MUESTRA TOTAL EN P.P.B.		COND. EN BASE A LIPIDOS EN P.P.B.		RECUPERACION
	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	
ALFA-BHC	2.4707	2.385	137.155	180.663	
LINDANO	1.978	1.966	149.83	148.92	
BETA-BHC	10.802	16.558	818.25	1254.268	100.7 %
HEPTACLORO	0.0	4.865	0.0	368.572	85.14
OCTACLORO EPOXIDO	4.020	8.898	304.515	674.023	85.36 %
HEPTACLORO EPOXIDO	5.2520	5.2524	378.90	397.869	
P,P'-DDE	50.184	104.503	3801.438	7916.102	95.05 %
DIELDRIN	1.7823	26.823	135.009	5072.462	87.64 %
O,P'-DDT	5.1685	5.1835	391.514	392.650	
P,P'-DDT	12.491	66.9632	946.193	5072.462	95.32 %

MUESTRA NO. 6

Peso de Muestra = 7.0 g % de Lípidos = 4.02 % Vol de Muestra = 5.0 ml Vol. de Inyección = 5.8 ul

PESTICIDA	CONC. EN BASE A MUESTRA TOTAL EN P.P.B.		CONC. EN BASE A LÍPIDOS EN P.P.B.		RECUPERACION
	Muestra sin Patrón Interno	Muestra sin Patrón Interno	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	
HCB	0.2811	0.2831	6.9925	7.0422	
ALFA-BHC	0.4917	0.4915	12.2313	12.2263	
BETA-BHC	4.3134	10.0866	107.2984	250.9102	101.03 %
HEPTACLORO	0.0	5,5603	0.0	138.3157	91.12 %
OCTACLORO EPOXIDO	0.3827	5.0708	9.5198	126.1391	82.04 %
P, P ₈ -DDE	250.7697	296.6441	6238.0467	7379.1999	80.28 %
DIELORIN	1.35	26.52	33.582	659.701	88.09 %
P, P' -DDT	7.1598	62.7619	178.1043	1561.2399	97.31 %

MUESTRA No. 7

Peso de Muestra = 7.0 g % de Lípidos = 4.72%

Vol. de Muestra = 5.0 ml.

Vol. de Inyección = 5.8 ul.

PESTICIDA	CONC. EN BASE A MUESTRA TOTAL EN P.P.B.		CONC. EN BASE A LÍPIDOS EN P.P.B.		RECUPERACION
	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno.	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	
HCB	1.3191	1.3749	27.946	29.129	
ALFA-BHC	1.474	1.544	31.228	32.711	
BETA-BHC	18.8885	24.3966	400.172	516.866	96.45 %
HEPTACLORO	0.0	4.5061	0.0	98.466	78.86 %
OCTACLORO EPOXIDO	9.421	14.821	199.593	313.998	94.50 %
P,P'-DDE	123.399	176.878	2614.331	3747.337	93.59 %
DIELDRIN	0.0	22.218	0.0	470.711	78.85 %
P,P'-DDT	70.659	124.884	1496.982	2645.792	94.90 %

MUESTRA No. 8

Peso de la Muestra = 7.0 g % de Lípidos = 3.72 % Vol. de Muestra = 5.0 ml Vol. de Inyección = 5.8 ul

PESTICIDA	CONS. EN BASE A MUESTRA TOTAL EN P.P.B		CONS. EN BASE A LÍPIDOS EN P.P.B.		RECUPERACION
	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	
HCB	0.5614	0.513	15.0904	13.789	
ALFA-BHC	4.201	4.22	92.922	113.4336	
LINDANO	0.8633	0.866	13.2055	23.278	
BETA-BHC	0.5565	5.265	14.9587	141.5230	82.40 %
HEPTACLORO	0.0	5.278	0.0	141.8726	92.36 %
OCTACLORO EPOXIDO	0.9615	6.501	25.8451	174.7468	96.94 %
P,P'-DDE	23.584	76.262	633.9379	2049.9226	92.18 %
P,P'-DDT	15.933	70.025	428.278	1882.272	94.66 %
DIELDRIN	0.0	25.825	0.0	694.176	87.93 %

MUESTRA No. 9

Peso de la Muestra = 7.0 g % de Lípidos = 4.98% Vol. de Muestra = 5.0 ml Vol. de Inyección = 5.7 ul

PESTICIDAS	CONC. EN BASE A MUESTRA TOTAL EN P.P.B.		CONC. EN BASE EN LIPIDOS EN P.P.B.:		RECUPERACION
	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	
LINDANO	1.134	1.132	22.771	22.731	
BETA-BHC	8.054	13.102	161.724	263.088	88.34 %
HEPTACLORO	6.1572	11.277	123.645	226.442	89.59 %
OCTACLORO EPOXIDO	0.260	5.350	5.2208	107.428	89.07 %
HEPTACLORO EPOXODO	2.514	2.511	50.451	50.421	
P,P'-DDE	65.546	118.046	1316.164	2370.363	91.87 %
DIELDRIN	0.132	26.112	2.651	524.329	90.93 %
O,P'-DDT	5.886	5.86	118.191	117.668	
P,P'-DDD	0.387	0.382	7.771	7.671	
P,P'-DDT	19.450	73.12	390.556	1468.249	93.92 %

MUESTRA No. 10

Peso de la Muestra = 8.0 g % de Lípidos = 3.18%

Vol. de Muestra 4.7ml

Vol. de Inyección = 5.7 ul

PESTICIDA	CONC. EN BASE A MUESTRA TOTAL EN P.P.B. :		CONC. EN BASE A LIPIDOS EN P.P.B. :		RECUPERACION
	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	Muestra sin Patrón Interno	Muestra con Patrón Interno	
ALFA-BHC	3.40	3.32	108.78	104.381	
LINDANO	0.71	0.68	22.32	21.379	
BETA-BHC	4.35	10.12	136.76	318.173	100.98 %
HEPTACLORO	0.00	5.35	0.0	168.204	93.62 %
OCTACLORO EPOXIDO	0.637	5.50	20.027	172.92	85.10 %
P,P'-DDE	30.06	80.12	945.08	2519.073	87.60 %
DIELDRIN	00.00	24.16	0.0	758.580	85.61 %
P,P'-DDT	13.337	65.312	419.315	2053.409	90.95 %

RESULTADOS DE LAS MUESTRAS TRABAJADAS SIN PATRON INTERNO-
EXPRESADAS EN P.P.B. EN BASE A LA CANTIDAD DE LIPIDOS
b) R E S U L T A D O S .

PESTICIDAS	No. DE LA MUESTRA.									
	No. 11	No. 12	No. 13	No. 14	No. 15	No. 16	No. 17	No. 18	No. 19	No. 20
HCB.	00.000	00.000	11.422	00.000	4.604	00.000	4.466	40.762	12.899	11.785
ALFA-BHC	17.392	64.745	12.844	15.315	7.410	15.543	8.518	91.211	35.217	11.139
LINDANO	24.319	37.535	14.492	15.315	6.403	100.524	9.091	82.466	45.845	19.139
BETA-BHC	91.885	00.000	77.199	00.000	0.000	00.000	164.626	447.084	150.72	149.69
HEPTACLORO	25.721	00.000	00.000	33.471	8.381	66.446	0.000	00.000	00.000	00.000
ALDRIN	00.000	00.000	00.000	00.000	0.000	00.000	0.000	00.000	00.000	00.000
OCTACLORO EPOXIDO	00.000	97.861	22.302	46.289	0.000	123.66	29.21	25.247	29.952	18.739
HEPTACLORO EPOXICO	00.000	86.559	17.810	00.000	0.000	3.018	0.000	00.000	00.000	29.001
TRANS- NONACLOR	15.924	00.000	00.000	00.000	31.295	00.000	3.557	00.000	00.000	8.308
P,P'-DDE	959.44	4097.1	1291.2	1550.3	5514.4	872.5	3041.5	3560.5	3246.4	2661.6
DIENDRIN	00.000	324.19	111.06	00.000	00.000	00.000	7.3123	00.000	165.22	74.617
Ø,P'-DDT	152.47	171.63	72.911	393.59	303.87	244.96	000.00	245.74	341.06	000.00
P,P'-DDD	00.000	00.000	00.000	00.000	00.000	00.000	00.000	00.000	000.00	199.85
P,P'-DDT	950.74	1525.6	474.03	1169.6	2345.3	925.52	1007.9	1116.6	1584.5	1553.9
% DE LIPIDOS	3.45	2.15	4.43	3.65	2.78	3.975	5.06	2.23	2.07	6.50

RESULTADOS DE LAS MUESTRAS TRABAJADAS SIN PATRÓN INTERNO
INTERNO EXPRESADAS EN P.P.B. EN BASE A MUESTRA TOTAL

PESTICIDAS	No. DE LA MUESTRA									
	No. 11	No. 12	No. 13	No. 14	No. 15	No. 16	No. 17	No. 18	No. 19	No. 20
HCB	0.000	0.000	0.206	0.000	0.128	0.000	0.226	0.909	0.267	0.766
ALFA-BHC	0.600	1.392	0.569	0.559	0.206	0.618	0.431	2.034	0.729	0.724
LINDANO	0.839	0.807	0.642	0.559	0.178	3.997	0.460	1.839	0.949	1.244
BETA-BHC	3.170	0.000	3.420	0.000	0.000	0.000	8.330	9.970	3.120	9.730
HEPTACLORO	0.000	0.553	0.000	1.222	0.233	2.642	0.000	0.000	0.000	0.000
ALDRIN	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
OCTACLORO EPOXIDO	0.000	2.104	1.690	1.690	0.000	4.917	1.478	0.563	0.620	1.218
HEPTACLORO EPOXIDO	0.000	1.861	0.000	0.000	0.000	0.120	0.000	0.000	0.000	1.885
TRANS- NONACLOR	0.550	0.000	0.000	0.000	0.870	0.000	0.180	0.000	0.000	0.540
P, P'-DDE	33.10	87.70	57.20	56.60	153.3	34.70	153.9	79.40	67.20	173.0
DIELDRIN	0.000	6.970	4.920	0.000	0.000	0.000	0.370	0.000	3.420	4.850
O, P-DDT	5.260	3.690	3.230	14.37	6.610	9.740	0.000	5.480	7.060	00.00
p, P'-DDD	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	12.99
p, P'-DDT	32.80	32.87	21.00	42.70	65.20	36.80	51.00	24.90	32.80	101.0

c).- DISCUSION

Al analizar los resultados de las muestras se observó lo siguiente.

- 1.- Ninguna de las muestras presentó Aldrín.
- 2.- Los valores más altos encontrados fueron - P,P' -DDT y P,P' -DDE el 100% de las muestras presentó estos pesticidas.
- 3.- Los rangos de variación para cada pesticida fueron:

PESTICIDA	P.P.B. EN BASE A MUESTRA TOTAL		P.P.B. EN BASE A LIPIDOS	
	MINIMO	MAXIMO	MINIMO	MAXIMO
HCB	0.128	1.3191	4.466	40.762
ALFA-BHC	0.206	4.201	7.410	137.155
LINDANO	0.178	3.997	6.406	149.83
BETA-BHC	0.3715	18.888	9.150	818.25
HEPTACLORO	0.233	6.1572	8.361	123.645
OCTACLORO				
EPOXIDO	0.260	9.421	5.221	304.515
HEPTACLORO				
EPOXIDO	0.120	5.252	3.018	397.86
TRANS-				
NONACLOR	0.180	0.870	3.557	31.295
P,P'-DDE	21.682	250.769	633.938	6238.046
DIELDRIN	0.132	6.97	2.651	324.19
O,P'-DDT	0.824	16.159	36.863	393.59
P,P'-DDT	7.159	101.0	178.104	2345.3

V.- CONCLUSIONES

Es bien sabido como en las últimas décadas se ha desarrollado dentro de la química analítica una serie de métodos esencialmente instrumentales, dadas las exigencias de encontrar sistemas de medición cuyos resultados sean precisos, en varios de los campos de la ciencia.

Revisando la bibliografía podemos encontrar de las características que debe satisfacer cualquier método analítico tales como:

1).- Precisión.- Que espere la reproductividad en una serie de mediciones.

2).- Exactitud.- Entendiendo el grado de perfección alcanzado en una medición.

3).- Sencillez.- Que ofrezca la menor dificultad posible; por la cual podemos llegar al resultado deseado con el menor número de pasos y de una forma rápida y práctica.

4).- Sensibilidad.- La cual está íntimamente ligada al instrumento y consiste en la propiedad del instrumento de reaccionar a la menor acción física; y va a-

ser mayor en cuanto las pequeñas variaciones de la magnitud medida den lugar a movimientos más amplios de la - - aguja u órgano indicador.

Al hacer un estudio minucioso sobre los métodos utilizados en la determinación de insecticidas organoclorados en leche humana se encontró que la técnica - que más satisfacía las características antes mencionadas era la referida por Guiffrida y modificada por Curley, la cual separa los residuos de pesticidas de la grasa y los cuantifica por cromatografía de gases como ya - antes se señaló en el capítulo correspondiente.

Al efectuar el trabajo experimental utilizando esta técnica se encontró que:

1).- La sensibilidad obtenida para los 14 insecticidas organoclorados que se analizaron fue de:

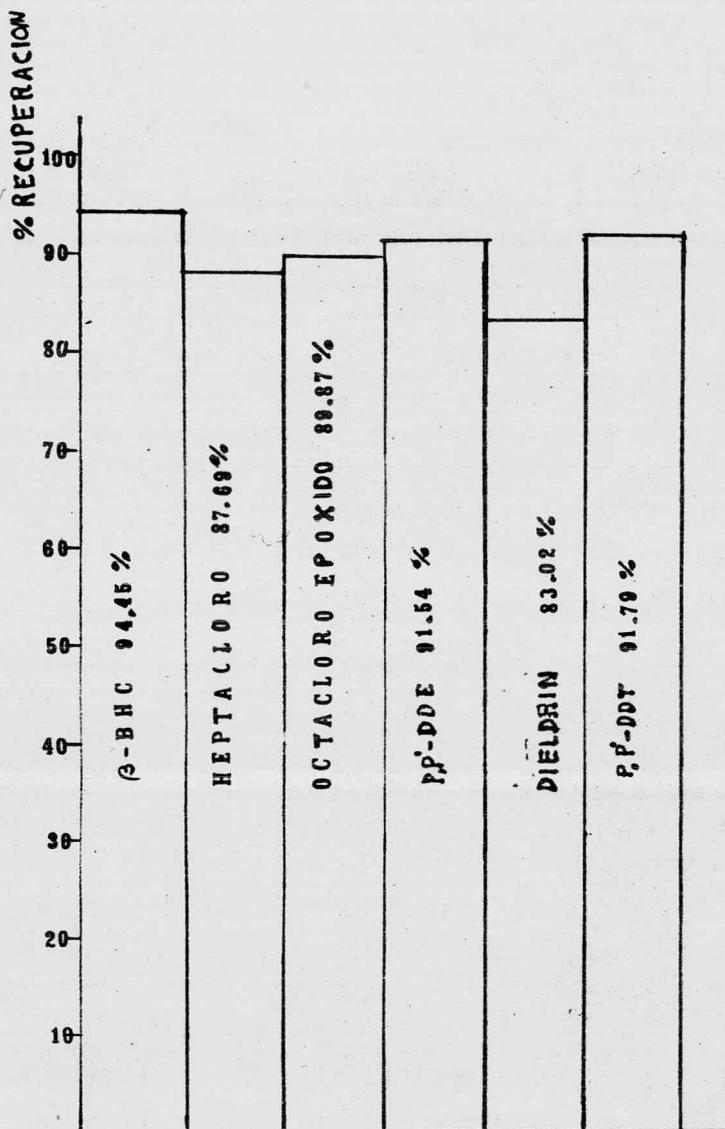
- 1.0 Pg para HCB y ALFA-BHC.
- 2.0 Pg para LINDANO, BETA-BHC, HEPTACLORO EPOXIDO.
- 3.0 Pg para TRANS-NONACLOR, ALDRIN.
- 4.0 Pg para HEPTACLORO EPOXIDO.
- 5.0 Pg para P, P' -DDE.
- 6.0 Pg para DIELDRIN
- 7.5 Pg para P, P' -DDT
- 8.0 Pg para P, P' -DDD
- 10.0 Pg para O, P -DDT

2).- Que la recuperación de los plaguicidas fluctuaba entre el 80 y el 92.8% obteniéndose la siguiente distribución: (ver gráfica No. 1).

Es importante señalar como la recuperación más baja correspondió al dieldrín con un promedio de 80.47%. Sin embargo si analizamos las características de este compuesto, llegamos a la conclusión de que esta pérdida no es debido a la técnica en sí, sino a la inestabilidad de este compuesto a la luz. Ya que aún cuando se tomaron algunas precauciones en el laboratorio no pudieron evitarse algunas pérdidas.

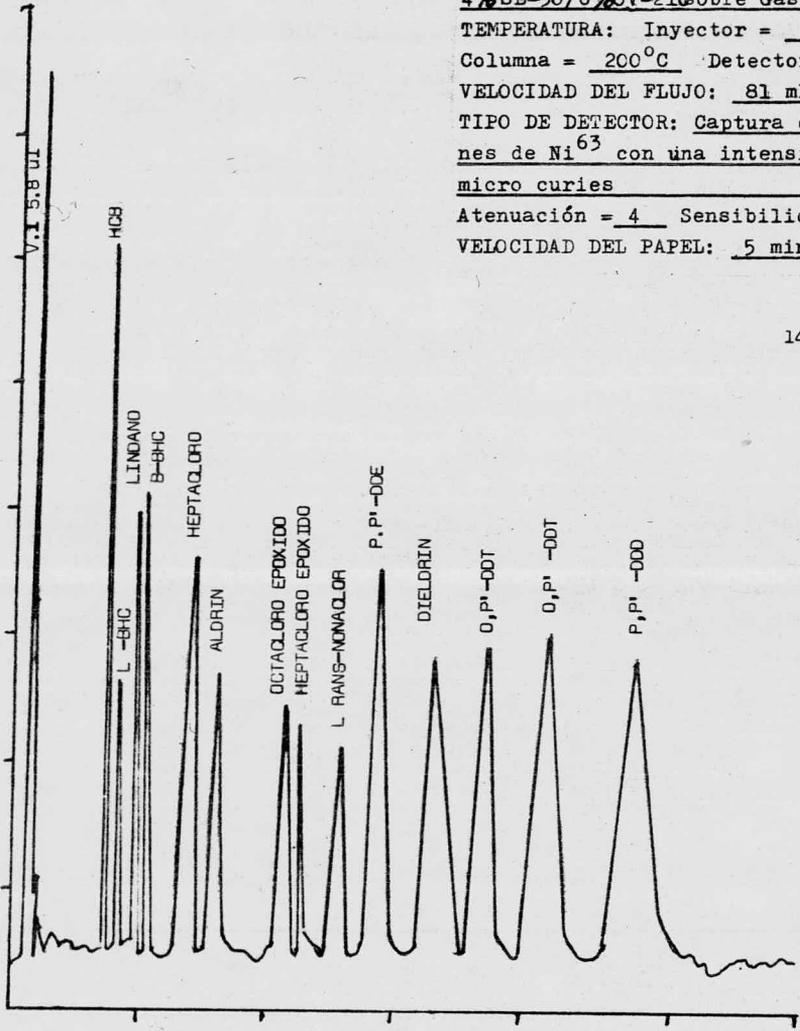
3).- Que la resolución de cada insecticida fue muy buena; por lo que no hubo problema ni para su cuantificación, ni para su identificación.

Por todo esto podemos concluir que la presente técnica es una de las más idóneas para la cuantificación y calificación de estos compuestos en un espécimen tan importante como la leche humana.



REPRESENTACION GRAFICA DE LA RECUPERACION DE LOS PESTICIDAS
PRESENTES EN LA MEZCLA PATRON

CROMATOGRAFO DE GASES: PACKARD 421
 MUESTRA: MEZCLA DE LOS 14 PESTICIDAS
 EN LAS MISMAS CONCENTRACIONES DE LAS
 MEZCLAS A₁ Y B₁ (Cap IV inciso "b")
 COLUMNA: 6 ft X 1/4 in empacada con
4% SE-30/6% OV-210 sobre Gas Ckrom "Q"
 TEMPERATURA: Inyector = 225°C
 Columna = 200°C Detector = 300°C
 VELOCIDAD DEL FLUJO: 81 ml/min de N₂
 TIPO DE DETECTOR: Captura de electro-
nes de Ni⁶³ con una intensidad de 10
micro curies
 Atenuación = 4 Sensibilidad = 10
 VELOCIDAD DEL PAPEL: 5 min/pulg.



VI.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Moeschlin, S.
Poisoning, diagnosis and treatment
Ed. Grame and Statton
New York (1965).
- 2.- Egan, H.; Goulding, J.; Roburn, R. and Tatton, J.
Organochloride pesticide residues in human
Fat and milk, Brit Med. J 2, 66, (1965).
- 3.- O'Brien, R. D.
Insecticides, Acción and Metabolism
Acad Press. New York (1967).
- 4.- Reyes, R. y Sánchez E.
Intoxicación por plaguicidas en la Comarca Lagunera
durante el ciclo agrícola de 1974.
Salud Pública en México 17 (5), 687-97 (1975).
- 5.- Robinson, J.
Chemistry in Britain 7, 472-475 (1971).
- 6.- Kroger, M.
Insecticide residues in human milk
J. of Peds 80 (3), 401 (1972).

- 7.- Wilson, D.J.
DDT Concentrations in human milk
Am. J. Dis Child. 125, 814, (1973).
- 8.- Laug, E. P.; Prickett, C. S., and Kunze, F. M.
Survey Analysis of Human Milk and Fat for DDT Con- -
tents.
Fed Proc. 9:294 (1951).
- 9.- Egan, R; Goulding, R. Roburn, J. P. and Tatton, J.O.G.
Organochlorine Pesticide residues in Human plasma and
Human Milk.
Br, Med.J. 2: 66, (1965).
- 10.- Finklea, J.: Priester, L.E.; Creason, J.P.; Hauser,
T. Rinnens, T. and Hammer, D. I.
Polychlorinated biphenyl Residues in Human plasma -
expose a major urban pollution problem.
Amer. J. Pub. Hlth. 62 (5): 645. (1972).
- 11.- Quinby, G.E.; Armstrong, J. F.; Durham, W. F.;
DDT in Human Milk. Nature, 207: 726, (1965).
- 12.- West, L.
Pesticides as Contaminants
Arch Environ Health 9, 626-631, (1964)

- 13.- Denes, A.
Investigación of Chlorinated Hydrocarbon Residues --
in animal and Vegetable Fats
Year-Book of Pesticides Nutrition, 1963 pp 46-47, -
(1967).
- 14.- Ritcey, W.R., Savarys, G. and Mc Cully, K.A.
Organochlorine Insecticide Residues in Human Milk, -
Evaporated milk and some milk substitutes in Canada-
Nanad J. Publ. Health 63: 125, (1972).
- 15.- Damaskin, V.I.
O. stiepieni Kumulatsii DDT organismie Chelovieka --
pri postupleniis pish chevimi produktami i yego - -
toksicheskom vozdieystvii (Grado de Acumulación del-
DDT en el cuerpo humano debido a su presencia en los
alimentos y su efecto tóxico).
Glg Sanit 30, 109 (1965).
- 16.- Kamitz y Castello, G.
Sulla presenza di residui di akumi disinfestanti nel
tessuto dispo umano ed in alcuni alimenu.
G. Ig. Med Prev. ?: 1-19 (1966).
- 17.- Bronisz, H. y Ochyniski I.
Zawartok DDT i DDE in inleku Kobięcym. (Contenido de
DDT y DDE en la leche de las mujeres).
Biuletyn Institutu Ochromy Roslin 41: 99-102,(1968).

- 18.- Heyndrickx, A. and Maes, R. J. Pharm. Belg. 24 (9-10); 459, (1969).
- 19.- Unterman, W. H.; y Sirghie, E.
Impregnarea Organismului Uman en Organochlorate - -
Cercatarea Continutului de DDT si DDE in Laptale - -
Matern (Impregnación del Organismo humano con com -
puestos organoclorados. Determinación del Conteni-
do de DDT y DDE en la leche materna)
Igiene 18 221-226, (1969).
- 20.- Tuinstra, L. G. M. T.
Neth Milk Dairy J. 25: 24, (1971).
- 21.- Savage, E. P.; Tessari, J.D., Malberg, J. W.; Whee-
ler, H. W. and Bagby, J. R.,
A search for polychlorinated biphenyl in human milk-
in rural Colorado. Bull. Environ. Contam. Tox. 9 -
(4): 222 (1973).
- 22.- Curley, A. and Kimbrough, R.
Chlorinated Hydrocarbon insecticides in plasma and
milk of pregnant and lactating woman.
Arch. Environ. Hlth. 18: 156 (1969).
- 23.- Hornabrook, R. W.; Dymont, P.G. Gomes, E. D. and —
Wiseman, J. S. DDT Residues in Human milk from New-
Guinea natives. Med. J. Aust. 1 (125): 1297, (1972).

- 24.- Newton, K. G.; and Greene, N. E.
Organochlorine pesticide residues levels in human
milk-Victoria Australia-1970.
Pestic. Mont. J. 6 (1): 4, 1972.
- 25.- Stacey, C. I.; and Thomas, B. W.
Organochlorine Pesticide residues in human milk
Western, Australia 1970-71.
Pestic. Mont. J. 9: 64-66, (1975).
- 26.- Acker, L. and Schulte, E.,
Ernahrungsforschung 16: 559, (1971).
- 27.- Acker, L. and Schulte, E.
Deut. Lebensm. Rundsch 66:385, (1970).
- 28.- Engst, R. and Knoll, R.
Pharmazie 27:526, (1972).
- 29.- Westoo, G. and Noren, K. and Anderson, M.
The levels of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in margarine, vegetable oils -
and some foods animal origin on the Swedish market-
in 1967-69.
Var Foeda 22 (2-3): 9, (1970).

- 30.- Dyment, P. G., Hebertson, L. M.; Gomes, E. D. - -
Wiseman, J. S. and Hornabrook, R. W.
Absence of Polychlorinated biphenyls in human milk
and serum from Texas and human milk from New Guinea
Bull. Env. Contam. Tox. 6 (6): 532, 1971
- 31.- Hagyard, S. B.; Brown, W. H.; Stull, J.W. Whiting,-
F. M. and Kermberling, S. R., 1973.
Bull. Env. Contam. Tox. 9: 169, (1973).
- 32.- Kontek, M. Kubacki, S. Paradowski, S. Wierzchwiecka,
B. Pediat. Pol. 46: 183, (1971).
- 33.- Gracheva, G. V.
Vopr. Pitan 29:75, (1970).
- 34.- Larsen, A.A., y Cols, Pesticide residues in mother's
milk and human fat from intensive use of scil insecti-
cides HSMSHA (Health Serv. Ment. Health Admin).
Health Rep. 86:477-481, (1971).
- 35.- Takeda, M. et al.
Shokuhin Eiseigaku Zasshi 13:422, 1973, Chem. Abstra
78,389.75 1972.

- 36.- Nishimoto, T. Hyeta, M. Taue, S. and Chikazawa, K.
Igaku, No Ay7mi 82: 574, 1973.
Chem Abstr. 78, 14573, (1972).
- 37.- Diszyna-Marzys; A. E.; Marit de Campos; Taghifarvar,
M. y Margaret Thomas.
Residuos de plaguicidas clorados en la leche humana
en Guatemala.
Boletín de la Oficina Sanitaria Paramericana 93-106
Febrero, (1973) .
- 38.- Savage y Cols.
(Comunicación Personal) Estudio Nacional a Niveles
de insecticidas Organoclorados en la leche materna
1975-76.
- 39.- Analytical Methods for Pesticides, Plant Ground Re-
gulators and food aditives. Vol. V (Additional prin-
ciples and Methods of Analysis) Cap. 2 y 4 (1967).
- 40.- Gajan, R. J. I. Assoc. Offec. Arg. Chemist. 48, - -
1027-1037, 1975
- 41.- Dabrio Bañuls, M. V.; Cromatografía de gases II; Edi-
torial Alambra; Madrid Barcelona, (1973).
- 42.- Analytical Methods for pesticides. Plant Ground Re-
gulators and food aditives Vol. II (Insecticides) --
New York, 1967.

- 43.- Guiffrida, L., D.C. Bostwick and N. F. Ires
Rapid Cleanup Techniques for chlorinate de pesti-
des residues in milk, fats, and oils. J. Assoc. Off.
analy. Chem.
49: 634-638 (1966).
- 44.- Journal of Dairy Science. 47, 1013 (1964)
- 45.- Análisis de Plaguicidas en leche
Official Methods of A. O. A. C. 12 th ed. 29. 012
(C) 1975.
- 46.- Thompson, J. F.; Editor Analysis of Pesticide Resi-
dues in Human and.
Environmental Protection Agency.
- 47.- Mills, P. A.
Journal de A O H C, 51, 29.30 1968
Determinación de plaguicidas en leche.
- 48.- Abott, D. C. and Thomson J.
Residu Reviews (Springer Verlag)
Vol. II Pgas. 1-36, 1965.
- 49.- Wegman, R. C. C., Greve, P. A.
Levels of organo chlorine pesticides and Inorganic
Bromide in Human milk, Rijksunec. Gent., 39 (2, -
Pte 2) 1301 (1974).