
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS



Título:

**“MONITOREO DE PLAGUICIDAS ORGANOCCLORADOS EN
LECHE MATERNA DE LA ZONA METROPOLITANA DE
GUADALAJARA”**

Tesis

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA PRESENTA:

Severiano Patricio Martínez

Director de tesis
DR. MARIO NOA PEREZ

Asesor
M.C. MARIO REAL NAVARRO



Universidad de Guadalajara
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y
Agropecuarias

Coordinación de Titulación y Carrera de Licenciatura
en Biología
802 / C. C. BIOLOGÍA

C. SEVERIANO PATRICIO MARTINEZ
PRESENTE

Manifiestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de: **Tesis e Informes** opción **Tesis** con el título: **"MONITOREO DE PLAGICIDAS ORGANOCOLORADOS EN LECHE MATERNA DE LA ZONA METROPOLITANA DE GUADALAJARA"** para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director / a de dicho trabajo el/la: **DR. MARIO NOA PÉREZ** Y el Asesor/a es el/la: **M en C. MARIO REAL NAVARRO.**

Sin más por el momento, le envío un caluroso saludo.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Zapopan., 28 de Agosto del 2006.

"2006. Año del Bicentenario del natalicio del Benemérito de las Américas.
Don Benito Juárez García"


DR. CARLOS ALVAREZ MOYA
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN



COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA


DRA. LAURA GUADALUPE MEDINA CEJA
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

Dr. Carlos Álvarez Moya.


Presidente del Comité de Titulación.
Carrera de Licenciado en Biología.
CUCBA.
Presente

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad **Tesis e Informes**, opción **Tesis** con el título: **"Monitoreo de plaguicidas organoclorados en leche materna de la zona metropolitana de Guadalajara"** que realizó el pasante **Severiano Patricio Martínez** con número de código **B00002534** consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

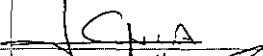

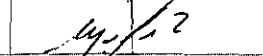

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente
Lugar y fecha.

Las agujas Zapopan Diciembre del 2006

Firma 
Nombre Dr. Mario Noa Pérez
Director/a del trabajo,

firma 
Nombre M.C. Mario Real Navarro
Asesor(es)

Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
Dr. Carlos Álvarez moya		12/01/07
Biol. Sergio Álvarez Barajas		18-12-07
QFB. Cinthia Temores Ramírez		12/1/07
Supl. MC. Luz Elena Claudio García		12/01/07

Handwritten notes:
V. B.
C
12

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a mi esposa SARAI HERNÁNDEZ, por todo el apoyo y la paciencia que me brindó durante mi estancia en esta escuela, gracias a dios por tenerte a mi lado te quiero.

A mis hijos JOSÉ MIGUEL y TRISTAN SEBASTIÁN, por que me hacen sentir indispensable y perdón por el tiempo que no les dedique.

A Dr. Mario Noa, por permitirme trabajar juntos y dirigir este trabajo, por su paciencia y dedicación.

A M.C Mario Real, por su apoyo incondicional, y por permitirme incursionar en la investigación.

A todos y cada uno de los que me brindaron apoyo en especial a Chuy Castañeda, Adreissa, Chiquini, MC Pacheco, Dr. Carlos campos, Dra Delia, gracias por su tiempo dedicado.

DEDICATORIAS

Especialmente a quien en vida me dio todo su amor y cariño. Ma TRINIDAD MTZ, quien me inculcaba a la superación, por que no existirá otro amor mas grande que el de ella, gracias MAMÁ en cualquier parte del universo que te encuentres.

A mi padre PEDRO PATRICIO MEMBRILA, quien me enseñó con su ejemplo la honradez, dignidad, esfuerzo y respeto, valores que me han ayudado a enfrentar la vida gracias papá.

CONTENIDO

RESUMEN-----	IV
INTRODUCCIÓN-----	1
JUSTIFICACIÓN-----	23
HIPÓTESIS-----	25
OBJETIVOS-----	25
MATERIALES Y MÉTODOS-----	26
RESULTADOS-----	30
DISCUSIÓN-----	34
CONCLUSIONES-----	39
BIBLIOGRAFÍA-----	40

RESUMEN

El hombre al utilizar plaguicidas sintéticos ha contaminado casi todos los sustratos abióticos y bióticos; debido a su fácil dispersión y gran persistencia. Esta contaminación origina problemas muy graves como la presencia de residuos de plaguicidas en alimentos. Con el objetivo de identificar y cuantificar los niveles de plaguicidas organoclorados en leche materna de madres residentes de la zona metropolitana de Guadalajara se llevo a cabo el presente trabajo. Para la purificación, identificación y cuantificación se utilizó el método recomendado por la International Dairy Federation FIL/IDF (1991), según el método de Stijve (1974) con ligeras modificaciones. 16 compuestos fueron monitorcados en total isómeros α y β de HCH, δ -HCH, γ -HCH (lindano), heptacloro, heptacloro-epóxido (isómero β), aldrin, dieldrin, endrin, DDT y sus metabolitos e isómeros más importantes como 4,4'-DDE, 4,4'-DDD y 4,4'-DDT, Endosulfán y sus isómeros α y β . Todos contenidos en el estándar de referencia, SUPELCO con una mezcla de concentración certificada (N° 49150-U, Bellefonte, PA USA) a una concentración de 20 $\mu\text{g/mL}$. Las muestras se dividieron en alícuotas de 20 ml y se congelaron inmediatamente obtenidas a cada muestra se le efectuaron dos corridas cromatograficas. Todas las muestras (n=60) presentaron más de un tipo de plaguicida, y mostraron diferencia residual entre ellas. Los plaguicidas encontrados están el ($\alpha+\beta$)-HCH en el 31,66%, el lindano en el 6,6%, del total de las muestras, el DDT se encontró en el 37% de las muestras, cabe destacar que estos plaguicidas no se encontraron en niveles que rebasaran el límite máximo residual extraño (LMRE) establecido por la Organización Mundial de la Salud para los diferentes plaguicidas estudiados. Aldrin y dieldrin se encontraron en el 18,33% una muestra rebasó el LMRE de 0,006 mg/L, heptacloro + heptacloro epóxido en el 21,66%, y 2 muestras rebasaron el LMRE establecido para este plaguicida de 0,006 mg/L, el 4,4'-DDE, metabolito del 4,4'-DDT se localizó en el 100% de las muestras y en 10 de las mismas se rebasó el LMRE de 0,02 mg/L, aunque sobrepasaron el máximo permisible se encontraron en niveles levemente por encima de la normatividad a diferencia de los reportes realizados anteriormente en otros estudios, esto demuestra la grave contaminación por plaguicidas que aun persiste en el ambiente la cual se acumula a través de la cadena alimentaría al final de

la cual se encuentra el hombre. La presencia de Aldrin + Dieldrin, Heptacloro + Heptacloro époxido, Endrin, ($\alpha+\beta$)-HCH, aunque se encontraron en niveles no violatorios constituyen particularmente un riesgo a la salud del lactante debido a las características tóxicas de estos plaguicidas, y su prohibición de uso en México.

INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas son sustancias químicas que se emplean para combatir diversas plagas que atacan a cultivos agrícolas y hortalizas, así como insectos dañinos para los animales y el hombre. Con este fin se aplican, herbicidas, fungicidas, rodenticidas, molusquicidas, insecticidas, acaricidas, ixodicidas (garrapaticidas), larvicidas, miticidas, nematocidas, etc. (Blüthgen y Tuinstra, 1997). En las regiones tropicales, el uso varía dadas las necesidades de control propias.

Residuo de plaguicida es cualquier sustancia presente en alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales y el hombre como consecuencia del uso de un plaguicida. Incluyendo cualquier derivado de un plaguicida como: productos de conversión, metabolitos, productos de reacción, e impurezas consideradas de importancia toxicológica. También se incluye residuos de procedencias desconocidas o inevitables (ambientales), y derivados conocidos de la sustancia química. El Límite Máximo de Residuos Extraños (LMRE) es un término que se aplica a plaguicidas o contaminantes ambientales y se refiere a la concentración máxima de residuos de un plaguicida o contaminante que la Comisión del Codex Alimentarius recomienda como aceptable en un alimento, producto agrícola o alimento para animales (Codex Alimentarius, 2006).

La "IDA" de una sustancia química es la dosis diaria que ingerida durante todo el período vital, parece no entrañar riesgos apreciables para la salud del consumidor. (Codex Alimentarius, 2006).

Existe a escala mundial una correlación que demuestra que, a mayor cantidad de plaguicidas, menores pérdidas en las cosechas. Por esa razón, el mercado de plaguicidas se ha ido incrementando año tras año (Mexpest, 1999, Anónimo, 2000). Adicionalmente a la reducción en las pérdidas de las cosechas, existe un conjunto de beneficios adicionales que brinda su aplicación, como son:

- Minimización del perjuicio dietético ocasionado a los productos agrícolas por el ataque de las plagas.

- Disminución del perjuicio sanitario de los alimentos.
- Disminución de la presencia de micotoxinas por la eliminación de los hongos causantes.
- Mejora de la situación sanitaria de las poblaciones por el control de vectores transmisibles de enfermedades.

No obstante las ventajas que representan, los plaguicidas tienen una marcada influencia adversa sobre el medio ambiente, siendo los efectos a largo plazo los más insidiosos y preocupantes, dados porque:

- La vida media de algunos de ellos en el suelo, puede llegar a ser del orden de varios años.
- Se movilizan y difunden a todos los ecosistemas, aunque no se halla aplicado en ellos.
- Pueden ser bioacumulados por algunos organismos vivos en cantidades importantes.
- Desequilibran los ecosistemas.
- Aparecen poblaciones de insectos, virus y bacterias resistentes a los mismos, lo que hace necesario el desarrollo y síntesis de nuevas sustancias, y finalmente
- Contaminan la cadena alimentaria, al final de la cual está el hombre, y particularmente el bebé lactante.

Por estas razones la contaminación con plaguicidas es objeto de interés en el mundo. Hay que resaltar el hecho de que los plaguicidas pueden permanecer en los alimentos en su forma activa, aun después de procesados (Mallatou et al, 2002).

Entre los efectos indeseables de los plaguicidas en el hombre están los siguientes:

1. Carcinogénesis: Pueden inducir cáncer en humanos, causados por compuestos de tipo epigénico, o sea, los que promueven la formación de tumores a dosis bajas, con poca o ninguna interacción con el material genético (ADN).
2. Teratogénesis: Pueden provocar alteraciones congénitas en función de la dosis, sin que exista una dosis umbral.

(Blüthgen y Tuinstra, 1997).

Actualmente existen en el mundo varias familias químicas de compuestos que se utilizan en calidad de plaguicidas, entre las que están los organoclorados (OC), organofosforados (OF), carbamatos, nicotinoides, de cobre, tiocarbamatos, carbaximidias, rotenoides y piretroides entre otros (Prado et al., 1998). De estos productos aproximadamente el 70% se utiliza en la agricultura y el resto en otros ambientes, entre ellos el doméstico. De la utilización mundial de plaguicidas, el 45 % corresponde a herbicidas, el 32 % a insecticidas, el 18 % a fungicidas, y el 5 % a otros (Tabla1). Según la OMS, el 10 % de los compuestos utilizados son organofosforados. A pesar del uso de plaguicidas, se admite que se pierde alrededor del 35 % de las cosechas, pues se estima que menos del 0.1 % de los productos aplicados alcanzan las plagas que se pretenden destruir, consecuentemente mas del 99 % de tales productos se dispersan en el ambiente y presentan un riesgo potencial para los ecosistemas y los organismos sobre los que no se tiene intención de incidir, produciendo daños que suponen un enorme costo indeseable (Repetto, 1995).

Tabla 1: Plaguicidas registrados por la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST), según los organismos que controlan.

Plaguicidas	Registrados
Insecticidas y acaricidas	158
Herbicidas	102
Fungicidas	125
Fumigantes	8
Rodenticidas	15
Atrayentes y feromonas	12
Molusquicidas	1
Nematicidas	4
Protectores de semillas	1
repelentes	2

CATALOGO AFICIAL DE PLAGUICIDAS 2005

TOTAL 428 compuestos

El hombre al utilizar plaguicidas sintéticos ha contaminado casi todos los sustratos abióticos y bióticos debido a su fácil dispersión y gran persistencia. Esta contaminación origina problemas muy graves como la presencia de residuos de plaguicidas en alimentos (Albert y Rendón, 1988).

En nuestro país los plaguicidas utilizados se ubican en diferentes categorías, sobresalen dos grandes grupos organoclorados (OC) y organofosforados (OF) además de carbamatos, piretroides, biológicos, etc (Tabla 2). La diferencia fundamental entre las dos primeras familias es su carácter toxico, los OF exhiben mayor toxicidad aguda, debido al bloqueo de la colinesterasa que se manifiesta por un cuadro colinérgico agudo, representando prácticamente la mayoría de las intoxicaciones, en los OC la toxicidad crónica o remota es la de mayor atención ya que para producir intoxicación aguda requieren elevadas dosis que en condiciones usuales de uso, difícilmente se dan (Prado et al., 1998).

Tabla 2: Grupos o familias de plaguicidas, registrados por la CICOPLAFEST, según su composición.

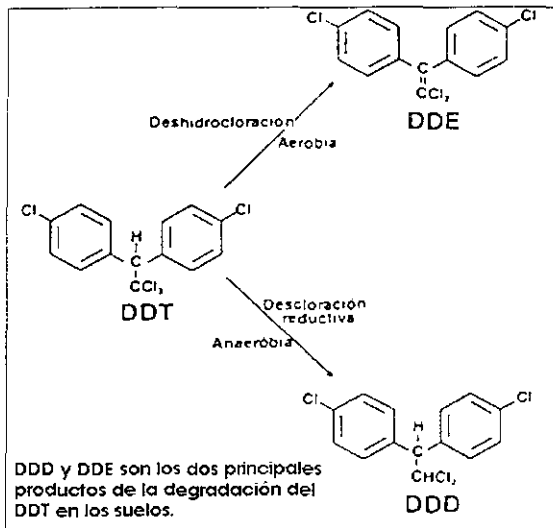
Familias de plaguicidas	# de familias registradas
Organoclorados	12
Organofosforados	66
Carbamatos	67
Piretroides	32
Biológicos	3
Tiocarbamatos	5
Carboxamidas	4
Inorgánico	2
Acetalinida	2

CATALOGO OFICIAL DE PLAGUICIDAS 2005

En México el 67.7% de los ejidos emplean como tecnología principal para el control de plagas el uso de plaguicidas químicos, mientras que en Jalisco el 94 % los utilizan. De esta manera, se emplean anualmente a nivel nacional un promedio de 60.000 toneladas de plaguicidas para proteger el alimento que se produce y se calcula que aproximadamente el 65% de este consumo, se aplica en los cultivos de maíz, sorgo, caña de azúcar, soya, arroz, hortalizas y pastos (Albert, 1999, INEGI, 2001).

Plaguicidas organoclorados (OC)

Los plaguicidas OC conforman un número considerable de compuestos sintéticos cuya estructura química, en general, corresponde a los hidrocarburos clorados, además de cloro, algunos de ellos poseen oxígeno o azufre, o ambos elementos en su estructura. Sus características comunes son: baja solubilidad en agua y elevada solubilidad en la mayoría de los disolventes orgánicos. Esto permite que los compuestos y sus productos de transformación (Figura 1) tiendan a acumularse en el tejido graso de los organismos vivos. Además presentan baja presión de vapor y una elevada estabilidad química, así como una notable resistencia al ataque de los microorganismos, lo que condiciona que su persistencia en el ambiente sea elevada (Arias et al., 1990).



(Arias et al., 1990)

Figura 1: Degradación del DDT en el suelo

El DDT no se produce en la naturaleza, fue sintetizado y dado a conocer en 1874, y se utilizó hasta que sus propiedades insecticidas fueron descubiertas en 1940, para proteger al personal de las zonas militares contra el paludismo, el tífus exantemático y otras enfermedades transmitidas por insectos (Shibamoto y Bjeldancs, 1993).

A partir del descubrimiento del DDT, creció la búsqueda de compuestos de constitución análoga, el hexaclorociclohexano, conocido como HCH, sigue en historia y utilización al DDT. Aunque fue sintetizado en 1825, las propiedades insecticidas del isómero gamma se descubrieron hasta 1940, e informado por los ingleses en 1943 (Fenicola, 1985).

El uso a gran escala del DDT y HCH para el control de insectos en agricultura y en campañas contra la malaria y el tifus, después de la Segunda Guerra Mundial, trajo como consecuencia serios problemas de resistencia en los insectos (Rocha-Gutiérrez, 2005).

Este abuso condujo al descubrimiento de otros plaguicidas derivados de la cloración de hidrocarburos; en particular, los caracterizados por tener al menos un anillo cíclico y un doble enlace, como el aldrín, el dieldrín, el clordano y el heptacloro. Muchos de estos plaguicidas presentan toxicidades bajas para los mamíferos, elevada persistencia y un amplio espectro de acción (Tabla 3). Estas propiedades fueron consideradas convenientes, durante el periodo inicial de uso (Real et al., 2004).

Tabla 3. Persistencia de algunos plaguicidas organoclorados en el medio ambiente.

Plaguicida	Duración de actividad (semanas)
Aldrin	520
Dieldrin	>312
Endrin	>624
DDT	546
HCH	208
Lindano	>728

Weber, J.B. 1977

Debido a su persistencia el uso de plaguicidas OC ha sido prohibido o restringido en la mayoría de los países. Sin embargo, en condiciones tropicales, el uso de este tipo de compuestos puede ser esencial, y así ocurre en numerosos países. Los alimentos y el suelo son, en la actualidad, las fuentes más importantes de contaminación (Roos y Tuinstra, 1991) y aunque los niveles de contaminación aparentemente están decreciendo, todavía constituyen un importante factor de riesgo (Prado et al., 2001). En sustitución de estos, se ha ido incrementando el uso de los plaguicidas organofosforados.

Los principales grupos de plaguicidas organoclorados son:

A) **Derivados de hidrocarburos aromáticos:** Como DDE, DDD, dicofol, metoxicloro, clorobencilato y el DDT.

DDT, nombres alternativos dicofane, desarol, gesapon, neocido. Su formula es 1,1.-Tricloro-2,2,-bis (p-clorofenil)etano. (figura 2).

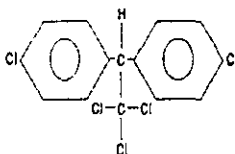


Fig 2: Estructura del DDT 1,1.-Tricloro-2,2,-bis (p-clorofenil)etano.

Fue sintetizado y descubierto por Zeidler en 1874 sus propiedades insecticidas fueron descubiertas por Paul Muller en 1939, llego a ser utilizado por aspersión en la Segunda Guerra Mundial, su punto de fusión es de 108.5-109 °C, soluble en solventes orgánicos, experimenta descomposición térmica cerca del punto de fusión para producir HCL y DDE (1,1.-dicloro-2,2-bis (p-clorodifenil)etileno), dehidroclora fácilmente a DDE en presencia de álcalis o bases orgánicas, en solventes orgánicos, DDT es estable en ácidos fuertes y resiste la oxidación ácida. Útil para el control de los insectos en el hogar, adicionalmente se usa para el control de insectos fitófagos en el hogar, bosque, y hortalizas (Zweigh, G. 1964).

B) **Derivados de hidrocarburos alicíclicos:** (cicloalcanos clorados), como los isómeros del hexaclorociclohexano, el más conocido es el lindano (isómero γ del HCH).

Lindano es el nombre común del isómero γ -HCH, uno de los ocho estereoisómeros del 1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano. (figura 3).

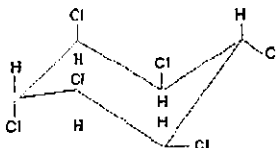


Fig 3: Estructura principal del lindano, 1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano.

Es un sólido blanco cristalino, estable a la luz, calor, aire, bióxido de carbono y ácidos fuertes. Los isómeros de HCH se producen por cloración fotoquímica del benceno, y dan como

resultado un producto llamado HCH técnico. El HCH técnico se compone principalmente de cinco isómeros: α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH y ϵ -HCH. La mezcla de isómeros fue ampliamente utilizada como insecticida económico, pero el isómero gama es el único que exhibe fuertes propiedades insecticidas, se refina comúnmente a partir del HCH técnico y se comercializa con el nombre de lindano. Se utilizó por primera vez en 1940 como insecticida eficiente y efectivo, aun el lindano puro contiene pequeñas cantidades de otros isómeros de HCH. (INE, 2003).

C) Derivados de hidrocarburos ciclodiénicos: (ciclodienos clorados): aldrin, dieldrin, endrin, endosulfán, mirex, clordano, heptacloro).

Aldrin es el nombre designado para productos insecticidas conteniendo no menos del 95% del compuesto 1,2,3,4,10,10,-hexacloro-1,4,4a,5,8a-hexa-hydro-1,4-endo, exo-5,8-dimetanonaftaleno (comúnmente abreviado HHDN), y no más del 5% de hidrocarburos clorados relacionados con el insecticida activo, (figura 4).

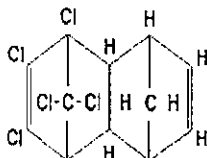


Fig 4: Estructura del principal constituyente del aldrin, 1,2,3,4,10,10,-hexacloro-1,4,4a,5,8a-hexa-hydro-1,4-endo, exo-5,8-dimetanonaftaleno (HHDN)

Fue descubierto por Rex E. Lidon, se empezó a utilizar en 1953 basándose en protocolos de aplicación, es térmicamente estable, no es notable su descomposición a temperaturas prolongadas de 240 °C. puede catalizarse con ácidos, es estable a soluciones cáusticas o alcohólicas. el doble enlace en el anillo clorado no es reactivo pero el doble enlace en el anillo no halogenado puede ser altamente reactivo con otros compuestos químicos. El Aldrin posee amplio espectro de actividad insecticida, y a sido ampliamente recomendado para su uso en suelo como en follaje, su toxicidad en mamíferos es moderadamente alta (Zweigh, G. 1964).

Dieldrin es el nombre designado para productos insecticidas conteniendo no menos del 85% de 1,2,3,4,10,10-Hexacloro- 6,7-epoxy- 1,4,4a,5,5,7,8,8a- octahydro- 1,4- endo, exo-5,8-

dimetanonaftaleno (HEOD) y no mas del 15% de compuestos relacionados con el insecticida activo, (figura 5).

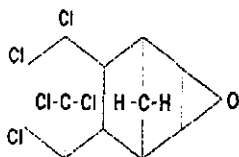


Fig 5: Estructura del dieldrin, 1,2,3,4,10,10-Hexacloro-6,7-epoxy-1,4,4a,5,5,7,8,8a-octahidro-1,4-endo,exo-5,8-dimetanonaftaleno (HEOD).

Fue descubierto por S. B. Soloway en 1948 y se empezó a utilizar en 1954 basándose en protocolos de aplicación. su punto de fusión es de 176 °C y es soluble en solventes orgánicos. el dieldrin posee un amplio espectro de actividad insecticida y a sido ampliamente recomendado para su uso contra plagas del suelo, follaje y para muchos propósitos no agrícolas, se absorbe rápidamente por la piel en cantidades tóxicas por lo que debe manejarse con cuidado (Zweigh, G. 1964).

Endrín, su formula química es: 1,2,3,4,10,10-Hexacloro-6,7-epoxi-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahidro-1,4-endo,endo-5,8-dimetanonaftaleno. (figura 6).

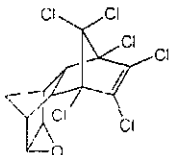
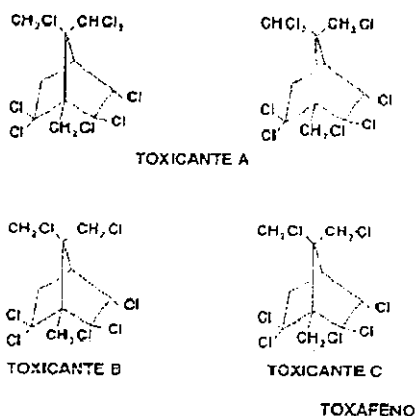


Fig 6: Estructura del endrín, 1,2,3,4,10,10-Hexacloro-6,7-epoxi-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahidro-1,4-endo,endo-5,8-dimetanonaftaleno

Fue introducido para propósitos de experimentación en 1951. es un sólido blanco y cristalino, su punto de fusión con descomposición a 200 °C, moderadamente soluble en benceno y acetona, parcialmente soluble en alcohol, parafinas y xileno, e insoluble en agua. es estable en presencia de reactivos alcalinos fuertes, y altamente tóxico para los insectos (Zweigh, G. 1964).

D) Derivados de hidrocarburos terpénicos (terpenos clorados) (figura 9).



(Simental, 1986)

Fig 9: Estructuras de los terpeno clorados.

A este grupo pertenecen los PCB (bifenilos policlorados); que no son plaguicidas sino productos técnicos que aparecen en los análisis junto a los OC. no son parte de la llamada docena sucia.

Independientemente de sus efectos adversos, los plaguicidas OC usados convenientemente permiten el control de enfermedades transmitidas por insectos u otros vectores. La tripanosomiasis (control de mosca tse-tse, la enfermedad de Chagas (control de chinches), la peste Bubónica (control pulgas de ratas), la fiebre del Dengue (mosquito *Aedes aegypti*)), han sido controladas apropiadamente con el uso de estos compuestos en zonas de epidemias (Prado et al., 1998).

El uso a gran escala de los plaguicidas OC condujo, en algunos casos con rapidez a un fenómeno hasta entonces no previsto ni investigado a fondo: la acumulación de residuos en el ambiente y en los seres vivos (Fenicola, 1986).

Donde quiera que se aplique plaguicida ya sea en el follaje, en la semilla del cultivo o en el suelo existe la posibilidad de que pueda conducir a una contaminación del ecosistema circundante. Esta contaminación ha originado problemas muy graves como la presencia de

Endosulfán, también conocido como Thiodan su formula es: 6,7,8,9,10,10-Hexaclor-1,5,5a,6,9,9a-hexahidro-6,9-metano-2,4,3-benzo-dioxatietin-3-oxido. (figura 7).

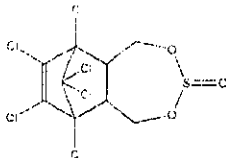


Fig 7: Estructura del endosulfán, 6,7,8,9,10,10-Hexaclor-1,5,5a,6,9,9a-hexahidro-6,9-metano-2,4,3-benzo-dioxatietin-3-oxido.

Fue descubierto por Hoechst A.G., es un sólido ligeramente café, su punto de fusión varía ya que posee dos isómeros, I 106-108 °C, II 208-210 °C, soluble en solventes orgánicos e insoluble en agua, reacciona con cloruro de tionil dando Thiodan, este último es sensible a la mezcla con ácidos y bases, se descompone lentamente por hidrólisis, es un insecticida de amplio espectro (Zweigh, G. 1964).

Heptacloro, también conocido como Velsicol 104, su formula es: 1,4,5,6,7,8,8-Heptacloro-3a,4,7,7a-tetrahidro-4,7-endomethanoindeno. (figura 8).

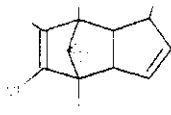


Fig 8: Estructura del heptacloro, 1,4,5,6,7,8,8-Heptacloro-3a,4,7,7a-tetrahidro-4,7-endomethanoindeno.

Julius Imán y asociados trabajaban con ciclodienos en 1945 cuando aislaron por primera vez al Heptacloro del clordano técnico, los cuales están fuertemente relacionados. El heptacloro puro es un sólido blanco y cristalino, posee un olor a alcanfor, su punto de ebullición es a 135-145 °C, su punto de fusión es a 95-96 °C, insoluble en agua, y fácilmente soluble en hidrocarburos aromáticos, estable a temperaturas de 160 °C y también a la luz, aire, mezcla con alcalinidad y ácidos, sin embargo en animales, suelo, y en algunas plantas se ha observado que se transforma en Heptacloro epóxido, es utilizado como insecticida agrícola (Zweigh, G. 1964).

residuos de plaguicidas en alimentos (FDA, 1999; Albert y Rendon 1988). Llegando a alcanzar la leche materna en concentraciones importantes (Elvia, 2000; Gladen, 1999, Terrones et al., 2000), siendo los niños justamente el grupo más susceptible (Castorina et al, 2003, Daston et al, 2004).

En México los plaguicidas OC se prohibieron paulatinamente desde 1982 (Aldrin, Endrin y Mirex), el Heptacloro y Dieldrin en 1992, y se prevé eliminar completamente el uso del DDT, cuyo uso actualmente está restringido, hasta el año 2006 (Ruiz, 2001).

Toxicidad de los organoclorados

Los efectos de estos químicos sobre las especies se clasifican como primarios, cuando el plaguicida actúa directamente sobre una especie dada, matándola o reduciendo su población y su efecto es secundario si el plaguicida no actúa directamente sobre la especie, pero destruye sus hábitat y la pone seriamente en peligro de desaparición (Fornicola, 1986).

Los efectos crónicos de OC sobre los organismos, son muy sutiles y usualmente se producen por exposición prolongada a concentraciones bajas, pueden aparecer como dificultades reproductivas, desordenes nerviosos, daños en algún órgano, carcinogenicidad, mutagénesis y teratogenicidad entre otros (Tabla 4). (Arias et al., 1990).

Tabla 4. Efecto carcinogénico de algunos plaguicidas organoclorados

Plaguicida	Carcinogenicidad
Aldrin-Dieldrin	Ratón / rata (tumores en hígado).
Heptacloro/heptacloro epoxido	Ratón (tumores en hígado y otros órganos)
DDT+DDE+TDE (DDD)	Rata (tumores en hígado y tiroides)
(alfa+beta+gamma) HCH	Ratón (tumores hígado y pulmón)
Hexaclorobenceno (HCB)	Ratón (tumores en hígado)
	Ratón (tumores en hígado)

Arias et al., 1990.

La toxicidad aguda (Tabla 5) de los plaguicidas OC se expresa, como en otros compuestos mediante la dosis letal media (DL₅₀), esto es, la cantidad del producto químico que es necesaria para matar al 50 % de la población en experimentación, por vía dérmica, oral o

respiratoria. Sin embargo la DL₅₀ no proporciona información sobre los efectos crónicos, remotos ni sobre la citotoxicidad del compuesto. (Fenicola, 1986)

Tabla 5. DL₅₀ de algunos plaguicidas organoclorados en ratas (mg/kg)

Plaguicida	Metabolito	DL ₅₀	
		Oral	Dérmica
DDT	4,4'-DDD, 4,4'-DDE Y 4,4'-DDT	113-118 (H)	300 (Aceite) (H)
Aldrin	Aldrin	38-54 (M)	98 (Aceite) (M)
Dieldrin	Dieldrin	37-87 (M)	60-90 (Aceite) (M/H)
Heptacloro	Heptacloro, Heptacloro epóxido	100	195 (Aceite) (H)
Lindano	γ-HCH α-HCH, β-HCH, δ-HCH	88-270 (M)	900-1000 (Aceite) (H)
Endosulfan	Endosulfán α y β, Endosulfán sulfato	83-100 (M)	
Endrin	Endrin, Endrin aldehído	7	

Arias et al., 1990.

H= Hembra; M= Macho

Aunque poseen diferencias estructurales los compuestos OC, parecen tener un mecanismo fisiopatológico común, (hiperexcitación de la membrana celular, particularmente de la neuronal) aunque con peculiaridades específicas en algunos productos. (Repetto, 1995).

Su toxicidad ha sido confirmada por diferentes estudios; inducen actividad enzimática, mediante radicales libres, afectan procesos reproductivos alteran el metabolismo de lípidos, la respuesta inmunológica, el transporte de vitaminas y glucosa, algunos son considerados mutagénicos, teratogénicos o carcinogénicos no solo en la especie humana, sino también en la comunidades bióticas con diferente nivel de sensibilidad (Prado et al., 2004).

Sobre el sistema inmunitario producen inmunodepresión, al generar atrofia en la corteza del timo y reducción de folículos linfoides, así como disminución del número de linfocitos. Por acción sobre el hígado provocan aumento de transaminasas, hepatitis y cirrosis, también afectan al sistema reproductor, algunos como el DDT poseen propiedades estrogénicas, compitiendo con el estradiol, y afecta el ciclo menstrual, la fertilidad, gestación, lactancia y vida de la descendencia, crecimiento testicular y caracteres sexuales secundarios, se han detectado efectos carcinógenos con diversos OC, en animales, sobre todo neoplasias sin metastasis, en hígado (hepatomas y hepatosarcomas) y tiroides, también se ha visto mutagénesis (Repetto, 1995).

En animales superiores el metabolismo, es decir, las biotransformaciones se realizan normalmente en el hígado mediante dos fases: en la primera por acción de diversas enzimas, principalmente oxidasas, pueden aparecer metabolitos de vida breve que pueden fijarse covalentemente sobre macromoléculas de la célula y ser origen de toxicidades diversas, en la segunda fase los nuevos metabolitos libres suelen conjugarse con sustancias presentes en el hígado dando compuestos más polares e hidrosolubles que pueden ser eliminados por el riñón (Coscolla, 1993). En ocasiones los metabolitos (ver tabla 5) pueden resultar más tóxicos que la molécula original (Joseph et al., 2002).

La exposición a plaguicidas por parte de los seres humanos puede tener su origen en fuentes diversas. Así pueden ingerirse residuos de estos, junto con alimentos de origen vegetal o animal, (carne, huevo, leche, etc.) e incluso con el agua y otras bebidas (figura 10) (Coscolla, 1993).

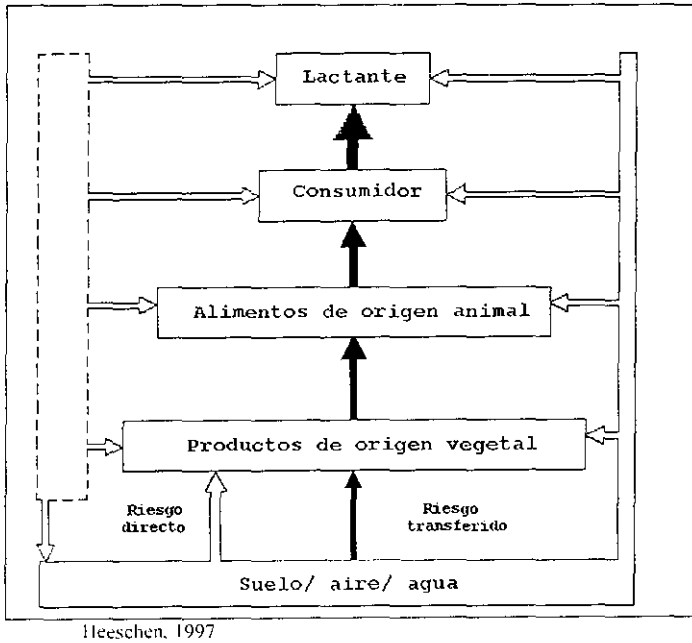


Fig 10: Riesgos de contaminación de la cadena alimentaria.

Los residuos de plaguicidas son productos agroquímicos que permanecen tóxicos en el ambiente después que han dejado de ser útiles dispersándose mas allá de su punto de aplicación (Coscolla, 1993).

A menudo los ecólogos evalúan los residuos de plaguicidas según el tiempo durante el cual son una amenaza para el ambiente y los humanos. Algunos productos químicos se degradan en pocos meses, otros en cuestión de días y otros permanecen activos durante años (Alpuche, 1991).

La retención de residuos de plaguicidas por los alimentos se concreta lógicamente a los compuestos más persistentes o estables ante la humedad, luz, oxidantes, procesos metabólicos, etc., y por tanto se refiere, a los productos organoclorados, algunos organometálicos y a ciertos carbamatos (Repetto, 1995).

Debido a la persistencia de los plaguicidas OC, en el medio ambiente y su capacidad de acumularse en la cadena alimentaria biológica (ver, figura 10), sus residuos pueden aparecer “naturalmente” en tejidos animales (Hatch, 1982), estos residuos pueden bioconcentrarse en el organismo de acuerdo a los patrones de equilibrio, del transporte interno y del contenido de lípidos en los tejidos (Waliszewski et al., 2001), estas concentraciones se biomagnifican de una especie a otra de acuerdo a la cadena alimentaria (figura 11).

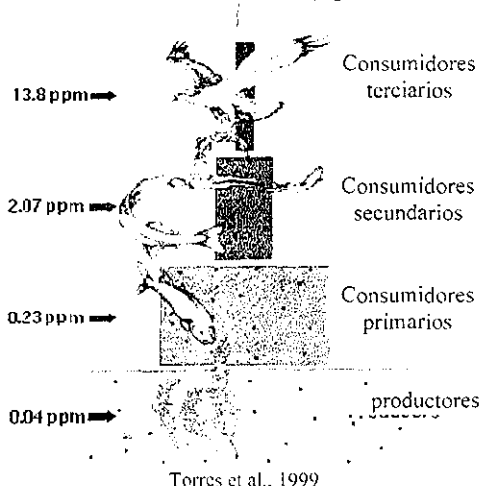


Figura 11: Biomagnificación de plaguicidas en la cadena alimentaria.

Los residuos liposolubles se acumulan en los tejidos grasos quedando de forma biodisponible, es decir no son ligados insolubles permaneciendo normalmente inactivos y, son capaces de ejercer su efecto tóxico cuando se dan determinadas circunstancias (Coscolla, 1993). En épocas de nutrición deficiente, los depósitos de grasa se movilizan, y los plaguicidas allí acumulados son liberados pasando al torrente circulatorio, con la posibilidad de ejercer efectos tóxicos, si su concentración alcanza niveles suficientemente altos (WIIO, 1990).

Los productos agropecuarios tales como carne, leche y derivados, son de uso frecuente en la dieta del hombre y, por lo tanto, la aplicación de pesticidas organoclorados ha sido prohibida o restringida en el entorno del ganado bovino en muchos países, sin embargo el control de parásitos en el animal, el control de insectos en los establos, los alimentos bovinos como pradera, ensilaje, heno, concentrados, y la contaminación ambiental (agua aire, suelo), representan un riesgo severo (Prado et al., 2004). Un trabajo de investigación anteriormente desarrollado en la zona urbana de Guadalajara mostró una elevada incidencia de niveles superiores al LMR de plaguicidas OC en la leche pasteurizada consumida (Real et al., 2004), pudiendo ser esta una fuente de contaminación de la leche materna humana.

Plaguicidas organoclorados y leche materna.

La leche materna es tan antigua como la humanidad, durante milenios ha sido el único recurso para la alimentación de los infantes. La lactancia materna como sistema para alimentar al niño en los primeros meses de la vida, ha probado su eficacia a lo largo de generaciones, se considera como la primera vacuna que recibe el niño y que es capaz de protegerlo de un elevado número de infecciones frecuentes, que amenazan a éste durante su primer año de vida (Riverón 1995), sin embargo también es un vehículo para la eliminación de sustancias tóxicas tales como el DDT del cuerpo humano, existiendo preocupación acerca de los efectos adversos que pudieran tener estos contaminantes sobre la salud de los lactantes (Torres et al., 1999).

La leche materna es el alimento natural y óptimo para los infantes. Además de encontrarse los nutrientes necesarios proporciona desarrollo inmunológico, fisiológico, ventajas ecológicas y funcionales (Kumar et al., 2006).

Los niveles de residuos de OC en la leche humana son reflejo de la ingesta vía alimentos, bioacumulación y un medio contaminado, son parcialmente eliminados vía leche en correlación con la grasa de la misma (Albert, 1996; Prado et al., 2001). Se ha sugerido que existe mayor probabilidad de desarrollar infecciones del tracto digestivo, en niños expuestos a elevadas concentraciones residuales de plaguicidas mediante leche materna (Coscolla, 1993).

Los análisis de tejido adiposo materno, suero de sangre materna, suero de sangre del cordón umbilical, calostro y leche madura indican una circulación de los compuestos OC a través de todo el cuerpo materno, incluyendo su cruce a través de la barrera placentaria. Los análisis realizados a la leche humana madura y al calostro, indican que existe un alto grado de descontaminación materno por este medio (Waliseski et al 2001), por lo que el amamantamiento representa una forma de transferencia de OC a los niños (Rivas et al 2003).

Los factores documentados que afectan los niveles del DDT en leche materna incluyen el contenido de grasa, cuerpo materno, peso, duración de lactancia, número de partos, edad materno y embarazos múltiples. Sin embargo, existe poca información acerca de la dieta y su efecto sobre el nivel de los residuos, en pocos estudios, los investigadores han sugerido que el consumo de pescado puede aumentar el contenido del DDT y metabolitos en leche materno humana (Torres et al., 1999).

En México el uso de OC ha disminuido en forma importante, debido a la restricción oficial, sin embargo se siguen utilizando en la agricultura y en el sector salud (Tabla 6).

Tabla 6. Volumen usado en México de DDT de 1988 a 1996

AÑO	Toneladas
1988	7900
1989	1000
1990	1200
1991	1200
1992	1050
1993	1000
1994	980
1995	950
1996	630

Dirección General de Medicina Preventiva, Secretaría de Salud 1997

En el catalogo oficial de plaguicidas editado por la (CICOPLAFEST) se encuentran registrados para su uso en México solamente 10 compuestos OC de los cuales 5 se encuentran restringidos (1,3 dicloropropeno, dicofol, lindano, pentaclorofenol y DDT), 1 esta prohibido (clordano), y 4 para uso sin restricciones (endosulfán, dienoclor y pentaclorfenato de sodio y triclorofenato de potasio (CICOPLAFEST, 2005).

El DDT está prohibido en Estados Unidos y Canadá. En México sólo está autorizado su uso para el control del paludismo y dengue por la Secretaría de Salud (RAPAM, 1996). No obstante las prohibiciones del uso de algunos pesticidas, tales como, endrín, dieldrín, aldrin, y las restricciones establecidas para el uso del lindano y hexaclorociclohexano (HCH), como también la autorización del DDT solo en campañas oficiales (México, 1997), se han encontrado estos OC en leche humana (Waliszewski et al., 1998, Torres et al., 1999).

RAPAM (1996) citado por Real et al., dice que el consumo de DDT para el control del paludismo fue de 630 toneladas en 1996, aunque la capacidad instalada anual de TEKCIEM (empresa dedicada a la fabricación y venta de productos químicos y agroquímicos) es de 3000 toneladas. La Secretaría de Salud Informo que México exporto 500 ton. de DDT en 1990, pero en 1995 fueron solo 21 ton. Los principales países receptores fueron Colombia, Guatemala y Panamá, además han demostrado interés Venezuela y Brasil.

RAPAM (1996) citado por Real et al., dice que en México, se importaron 120 ton. de 1991 a junio de 1994 de clordano, provenientes de Estados Unidos donde se encuentra severamente restringido desde 1978.

Los plaguicidas OC prohibidos para su importación, fabricación, formulación, comercialización y uso son: aldrín, dieldrín y endrín, conforme al Diario Oficial de la Federación de 1991. (CICOPLAFEST, 2005).

Los plaguicidas cuyo uso ha sido restringido en el catálogo oficial de plaguicidas publicado en el Diario Oficial de la Federación 1991 son: lindano, metoxicloro, DDT, por su alto riesgo a la salud humana, su elevada persistencia y sus propiedades de bioacumulación, este plaguicida solo podrá ser utilizado por las dependencias del ejecutivo en campañas sanitarias. El HCH actualmente se encuentra en desuso por parte del ejecutivo federal CICOPLAFEST, 2005).

El Lindano está prohibido para cualquier uso en Belice (1985), Ecuador (1985), Finlandia (1988), Holanda (1981), Hungría (1968), Indonesia (1985), Kuwait (1980), Nueva Zelanda (1990), Corea (1986), Singapur (1984), Suecia (1988), Japón (1971), y Ex - Unión Soviética (1988). Mientras que está severamente restringido en, Alemania (1980), prohíbe su uso en ganado lechero. Argentina (1972), prohíbe su uso como agente anti-gorgojo, gusano del trigo en semillas y productos de consumo humano. Australia (1987), sólo para el control de la larva blanca de la piña. Austria (1992), solo lo permite para tratamiento de semillas. China (1982), prohíbe su uso en árboles frutales, verduras, hierbas, te, tabaco, café y pimienta. Colombia (1991), prohíbe ciertos tipos de formulaciones. Chipre (1987), solo lo permite para el tratamiento de madera. República Dominicana (1986), Filipinas (1983), prohibió su importación excepto en emergencias como lo determinen las autoridades competentes. Israel (1982), lo permite sólo para uso agrícola contra la langosta. Se revocó su uso contra la sarna, pediculosis y atomizadores caseros. Marruecos (1984), solo lo permite para tratamientos de semillas, Polonia (1987), lo retira gradualmente de los usos agrícolas e higiénicos sanitarios, Sri Lanka (1986), solo en semilleros de coco, control de langosta y en usos medicinales, Yugoslavia (1972), lo prohibió en la agricultura. El lindano está restringido para usos específicos en. Canadá (1987), la información que apoyaba algunos de sus usos era

inadecuada y los avances técnicos convirtieron a algunos de sus usos en obsoletos. Estados Unidos de Norteamérica (1985), prohibido su uso en artefactos de vaporización y fumigación por humo y otros usos deben incluir descripciones en la etiqueta. Países de la CE (1988), el lindano (γ -HCH) que contiene mas del 1% de otros isómeros (α , β , δ) está prohibido. Restringido en el tratamiento de tierras o semillas en contra de insectos de tierra. Venezuela (1983), solo se puede usar contra vectores de enfermedades a través de la Secretaria de Salud, en emergencias agrícolas relacionadas con hormigas y termitas. En México (1978), el lindano está restringido al uso agrícola, pecuario e industrial. A nivel agrícola solo se usa para controlar plagas de plantas ornamentales y para el tratamiento de semilla en los cultivos de avena, cebada, frijol, maíz, sorgo y trigo y para la aplicación al suelo en maíz y sorgo. En el uso pecuario se incluye la aplicación a bovinos carne y porcinos para el control de larvas de mosca. En la rama industrial se utiliza para acabar con pulgas y garrapatas (RAPAM, 1996).

El motivo principal de prohibir y restringir los plaguicidas OC es su elevada persistencia en el medio ambiente, sus efectos adversos sobre el ambiente y capacidad de bioacumulación y biomagnificación, cuando estos entran a las redes alimenticias, se distribuyen a través de ellas, se bioacumulan en cada nivel ecológico y se biomagnifican sucesivamente, hasta que alcanzan una concentración letal para algún organismo constituyente de la cadena, o bien, hasta que llegan a los niveles superiores de la red trófica (RAPAM, 1996).

Análisis de residuos de plaguicidas organoclorados en leche.

Aunque el grupo de los plaguicidas organoclorados se encuentra en franco desuso por toda la serie de desventajas que presentan desde el punto de vista de elevada persistencia y la aparición de insectos resistentes, todavía constituyen un renglón importante entre las producciones químicas en el mundo (Noa et al., 2001).

A causa del elevado riesgo por bioacumulación de OC, el LMRE en leche es muy bajo (ver Tabla 7), por lo que se requieren métodos muy sensibles para su detección y cuantificación, en cualquier programa de monitoreo de residuos, el proceso de las muestras para la

determinación de residuos de plaguicidas organoclorados, incluye las etapas de extracción de (generalmente grasa), purificación y análisis. (Figura 12 (Noa et al., 2001).

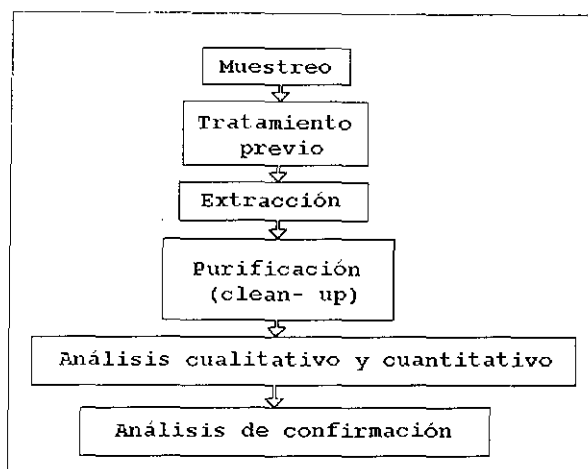


Fig 12: Pasos generales de un método de análisis de alimentos por CG o HPLC.

Generalmente los métodos más empleados para el análisis de plaguicidas organoclorados son multi-residuos, es decir, abarcan un gran número de estos y sus metabolitos, el método de detección por excelencia de este grupo de sustancias es la cromatografía gas líquido con detección por captura electrónica, dada la relativa volatilidad de estos compuestos a las temperaturas de trabajo empleadas en esa técnica, además la presencia de átomos de halógenos en su estructura permite una elevada sensibilidad (Roos y Tuinstra, 1991).

Los métodos más comunes de análisis de plaguicidas organoclorados en leche, publicados por la FIL/ADF (1991), incluyen diversas variantes de métodos para, extracción de grasa, purificación por columna de adsorción y análisis por cromatografía de gas líquido (CGL), cromatografía de capa fina (CCF) y otros métodos de confirmación. (Noa et al 2001).

Los métodos de extracción y purificación se han estudiado con vistas a su optimización (Manes et al., 1993), ya que en muchos casos los reportados por la literatura internacional resultan costosos en función de reactivos y tiempo (Pinto et al., 1987). Una tendencia de

actualidad en este sentido lo constituye la aparición de métodos analíticos basados en el uso de técnicas inmunoenzimáticas (Ferguson et al., 1993), cuyo costo por análisis resulta significativamente inferior a las técnicas analíticas tradicionales.

JUSTIFICACIÓN

De los posibles residuos tóxicos presentes en leche materna, los plaguicidas reciben atención prioritaria, por ello, con fines regulatorios se fijan concentraciones máximas permitidas en diversos alimentos. (FAO/OMS, 2006). Aunque en ciertos países, se han establecido tolerancias más exigentes, los residuos de estos tipos de compuestos aparecen en concentraciones alarmantes.

Los programas de gobierno tales como la promoción de la lactancia materna y su importancia en la salud del infante, invita a las madres a proveer a su hijo de defensas y nutrientes que se encuentran de manera natural en la leche, restando importancia al hecho de que puede ser vehículo de residuos tóxicos, en especial de los organoclorados ya que estos en su mayoría son lipofílicos los cuales se alojan en la fase lipídica de la misma, pudiendo desencadenar diversas reacciones en el lactante.

El riesgo de contraer cáncer como consecuencia de la repetida y continua ingestión de pequeñas cantidades de residuos de plaguicidas en los alimentos, residuos indetectables por el consumidor debe de ser atención prioritaria, porque en la cúspide de la cadena alimentaria se encuentra el hombre y en especial el bebe lactante que es mucho mas susceptible a sufrir daños ocasionados por este tipo de compuestos.

En nuestro país no existe una vigilancia sistemática de la contaminación ambiental por este tipo de compuestos, por lo que la toma de muestras de material biológico es hasta la fecha el único instrumento efectivo para implementar un control en la presencia de plaguicidas en alimentos, el presente estudio pretende evaluar los niveles de plaguicidas organoclorados contaminantes de leche humana de madres residentes de la zona metropolitana de Guadalajara.

La contaminación del ser humano se ha demostrado por diversos estudios inmunológicos realizados demostrando que los plaguicidas organoclorados y sus metabolitos, son capaces de interferir con la capacidad de las células NK (Natural Killer), para identificar y atacar un

antígeno por lo que se incrementa el riesgo de incidencia tumoral o infección viral. (Reed, et al 2004).

Parte de esta contaminación se excreta del organismo por medio de la leche materna, que contiene una mayor concentración de lípidos que el plasma por lo que los compuestos liposolubles tóxicos, tienden a concentrarse en ella. Entre los elementos contaminantes puede haber diversos medicamentos, como sulfamidas, bromuros, cafeína y anfetaminas, así como alcohol, nicotina, anticonceptivos orales, micotoxinas, plaguicidas y metales pesados, estos dos últimos han sido objeto de particular interés por sus notables residuos encontrados en leche humana. (Alfredo, 2003).

HIPÓTESIS

Los plaguicidas organoclorados contaminan la leche materna de madres que viven en la zona metropolitana de Guadalajara en niveles peligrosos para la salud del lactante.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la presencia de los principales plaguicidas organoclorados que contaminan la leche materna de madres residentes de la zona metropolitana de Guadalajara..

OBJETIVO PARTICULARES

1. Evaluar los niveles de plaguicidas organoclorados en leche humana en la Zona Metropolitana de Guadalajara
2. Comparar los resultados obtenidos con los establecidos en la normatividad internacional vigente.
3. Comparar los resultados obtenidos con estudios similares efectuados anteriormente en México.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de residuos tóxicos II del Departamento de Salud Pública de la Universidad de Guadalajara, se recolectaron 60 muestras de leche cruda comprendidas en un periodo de 12 meses, dicha recolección se efectuó previo consentimiento de madres donantes, en un volumen aproximado de 20 ml de la zona metropolitana de Guadalajara.

La metodología utilizada para la determinación de plaguicidas organoclorados en leche materna fue la recomendada por la Federación Internacional de Lechería FIL/IDF (1991), según el método de Stijve (1974) con ligeras modificaciones. Las muestras se dividieron en alícuotas de 20 ml y se congelaron inmediatamente una vez obtenidas.

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

La extracción se realizó según la metodología recomendada por AOAC (Methods for Pesticides 1996), se basa en la extracción selectiva de los plaguicidas mediante agitación a alta velocidad con la adición de un solvente, y eliminación del agua con sulfato de sodio anhidro (Fig 13).

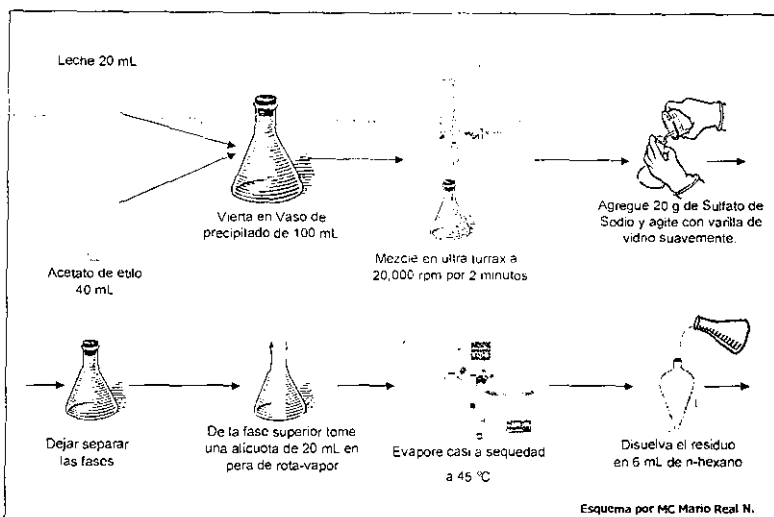


Fig 13: Extracción simultanea de residuos de plaguicidas organoclorados y organofosforados.

Los extractos así obtenidos se purificaron en columna de Florisil (60- 100 mesh), previamente activada a 150 °C por 12 horas y desactivada con agua destilada al 3% peso/peso) (Figs. 14, 15, 16).

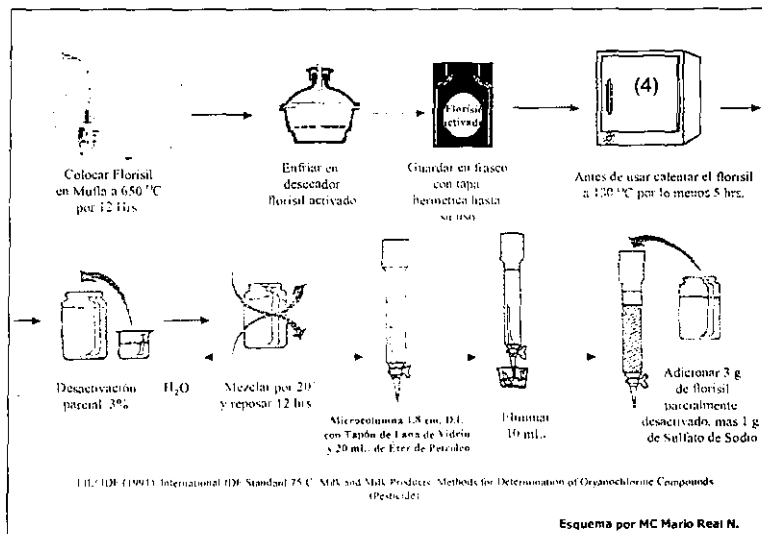


Fig 14: Purificación de plaguicidas organoclorados

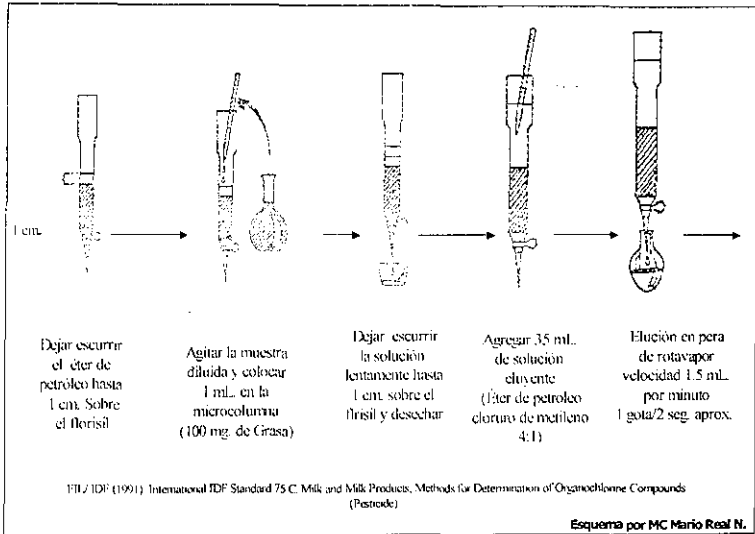


Fig: 15 Purificación de plaguicidas organoclorados

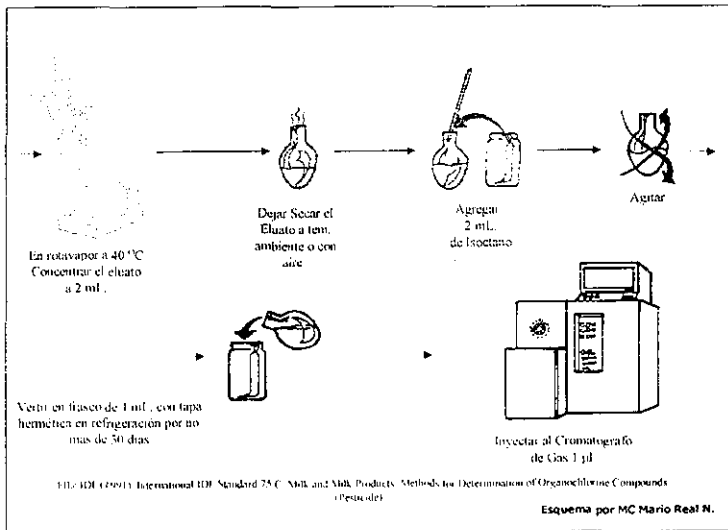


Fig 16; Purificación de plaguicidas organoclorados

Para verificar la calidad de la purificación se incluyó una columna con 1 mL de la mezcla de estándares a una concentración de 0.05 µg/mL y un control negativo consistente en solventes sin muestra.

Para los análisis cualitativo y cuantitativo se utilizó un cromatógrafo de gases VARIAN 3400 CX equipado con detector de captura de electrones (Ni 63) integrado con el sistema Star Chromatography Workstation. Condiciones cromatográficas: Columna SUPELCO, SPB- 608 de 30 m x 0,53 mm d.i. x 0,50 µm de espesor de película. Programa de temperatura: 170 °C (2 min) a 3 °C/min. hasta 200 °C con una duración de 35 min. total. flujo del gas de arrastre y gas auxiliar (N₂): 4,3 y 30 mL./ min. respectivamente. El detector (ECD) se mantuvo a 300 °C; inyector (en modo splitless) a 250°C. los volúmenes inyectados de muestras y estándares fueron de 1 µL. en todos los casos.

Los compuestos monitoreados fueron, Isómeros α y β de HCH, δ-HCH, γ-HCH (Lindano), Heptacloro, Heptacloro-epóxido (isómero β), Aldrin, Dieldrin, Endrin. DDT y sus metabolitos e isómeros más importantes como 4,4' DDE, 4,4' DDD y 4,4' DDT, Endosulfán e isómeros α y β. Todos contenidos en el estándar de referencia, SUPELCO con mezcla de concentración certificada (N° 49150-U, Bellefonte, PA. USA) de 20 µg/ML, los cromatogramas típicos obtenidos para estándares y muestras se presentan en la Figura 17.

El análisis cualitativo se efectuó utilizando un 1% de desviación de tiempo de retención como ventana positiva para la identificación, mientras el cuantitativo se realizó por comparación de la altura de picos del cromatograma de la muestra en relación con los estándares correspondientes utilizando el método del estándar externo (Noa et al., 2001).

El análisis estadístico se aplicó teniendo en cuenta que los residuos de plaguicidas OC contaminantes de leche materna humana, no cumplen con una distribución normal (Noa et al., 2005), utilizando para este estudio: la determinación del percentil 50 (mediana) y rango de concentración de cada plaguicida, así como comparación con los valores de LMRE establecidos por el Codex Alimentarius, a fin de determinar el porcentaje de plaguicidas y muestras que sobrepasan el Límite Máximo Residual Extraño (LMRE) ver tabla 7.

RESULTADOS

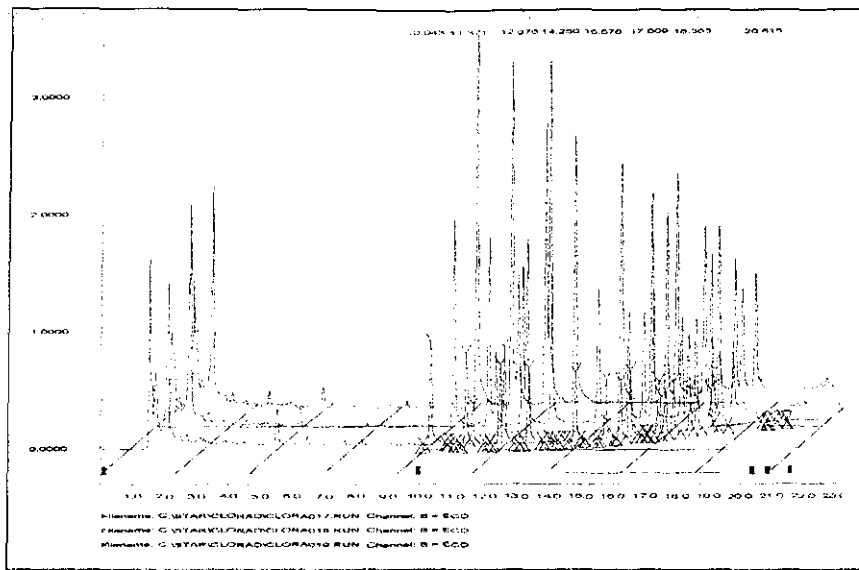
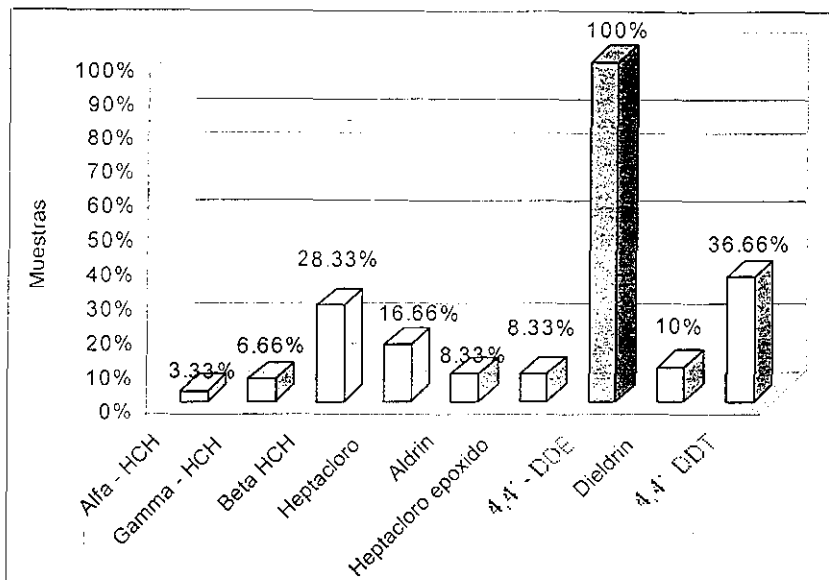


Fig 17: Cromatograma típico de tres concentraciones de plaguicidas OC por detector captura de electrones (ECD).

Todas las muestras analizadas de leche materna (n=60) resultaron con presencia de al menos un plaguicida. El DDE metabolito del DDT estuvo presente en la totalidad de las muestras, el DDT se encontró en el 36.6 % de las muestras y beta HCH se encontró en el 28.33 % de las muestras estos son los de mayor presencia como se muestra en la grafica 1.



Grafica 1: Porcentaje de muestras (n=60) de leche materna de madres residentes de la zona metropolitana de Guadalajara que presentaron residuos de plaguicidas organoclorados.

Las concentraciones máximas y mínimas de plaguicidas OC encontradas en las diferentes muestras fueron (n=60): (α + β)-HCH 0.0012-0.03 mg/L base leche, (límite máximo para residuos extraños) LMRE no encontrado (N/E). Lindano 0.0007-0.0018 mg/L base leche, ninguna superó el LMRE de 0.01 mg/L base leche. Heptacloro mas Heptacloro epóxido 0.0004-0.0086 mg/L. Base leche. 2 muestras superaron el LMRE de 0.006 mg/L, Aldrin mas Dieldrin 0.0004-0.0146 mg/L base leche, solamente 1 muestra superó el LMRE de 0.006 mg/L base leche, el DDT 0.0005-0.0036 mg/L base leche, ninguna muestras superó el LMRE de 0.02 mg/L base leche, el DDE metabolito del DDT 0.0013-0.0837 mg/L base leche, 10 muestras superaron el LMRE establecido de 0.02 mg/L, la comparación del LMRE se realizó de acuerdo a la normatividad vigente de la FAO/OMS 2006 (Tabla 7).

Tabla 7: Concentraciones máximas permisibles de los principales plaguicidas organoclorados en leche

PLAGUICIDAS	Límites Máximos para Residuos Extraños en Leche (LMRE) (mg/L)
(α + β)-HCH	N/E
γ - HCH (Lindano)	0,01
Aldrin + Dieldrin	0,006
Heptacloro + Heptacloro epóxido	0,006
DDT + metabolitos	0,02

LMRE = Limite Máximo de Residuos Extraños. Codex Committee on Pesticide Residues FAO/OMS, 2006.

En el tabla 8 se presentan los niveles promedios por plaguicidas OC encontrados en el total de las muestras, estas cantidades son comparadas con los límites de residuos señalados por la FAO/OMS, encontrando niveles inferiores a lo establecido por la normatividad en la mayoría de las muestras, en el mismo se puede observar el porcentaje de muestras que superó el valor del Limite Máximo de Residuo Extraño (> LMRE) para los plaguicidas investigados. También se muestra el % de muestras con presencia de plaguicidas. En este cuadro se expresa la suma de α y β -HCH, de Aldrin y Dieldrin, de Heptacloro y Heptacloro epóxido, DDT y su metabolito DDE.

Tabla 8: Valores mínimos y máximos, muestras con presencia de plaguicidas y su comparación con lo establecido por la normatividad.

Plaguicida	LMRE* (mg/L)	Concentración (mg/L) base leche promedio	% de muestras > LMR	Rango	% de muestras con presencia
(α + β)-HCH	N/E	0,0047	0,0	0,0012- 0,03	31,66
γ -HCH Lindano	0,01	0,0013	0,0	0,0007- 0,0018	6,66
Aldrin + Dieldrin	0,006	0,003	1,6	0,0004- 0,0146	18,33
Heptacloro + Heptacloro Epoxido	0,006	0,0021	3,3	0,0004- 0,0086	21,66
DDT	0,02	0,0017	0,0	0,0005- 0,0036	37
DDE	0,02	0,0138	16,6	0,0013- 0,0837	100

*LMRE = Limite Máximo de Residuos Extraños. Codex Committee on Pesticide Residues FAO/OMS, 2006.

En la tabla 9 se muestran los límites mínimos de detección obtenidos para cada compuesto monitoreado en este estudio, también se muestra el límite de cuantificación recomendado para cada compuesto de interés según la metodología de la FIL/IDF (1991)

Tabla 9: Limite mínimo de detección y cuantificación de plaguicidas OC en leche materna

Plaguicida	Detección	Cuantificación
1.- Alfa HCH	0.0075	0.0126
2.- Gamma HCH	0.0045	0.0075
3.- Beta HCH	0.024	0.041
4.- Heptacloro	0.0053	0.0089
5.- Delta HCH	0.0042	0.0067
6.- Aldrin	0.0058	0.0097
7.- Heptacloro epoxido	0.0057	0.095
8.- Endosulfán I	0.0106	0.018
9.- 4,4' DDE	0.0065	0.0108
10.- Dieldrin	0.0068	0.0113
11.- Endrin	0.017	0.028
12.- 4,4' DDD	0.0088	0.0146
13.- 4,4' DDT	0.014	0.024

DISCUSIÓN

$(\alpha + \beta)$ - HCH.

Estos isómeros se encontraron en el 31.66 % de las muestras ($n = 60$) aunque se encontraron en niveles bajos con un promedio de 0.0047 mg/L no hay en la normatividad un límite establecido. en estudios similares realizados anteriormente se reporta al isómero β - HCH en concentraciones altas con un promedio de (0.70 $\mu\text{g/g}$) base grasa mientras que el isomero α - HCH. se reporta con un promedio de (0.37 $\mu\text{g/g}$) para la zona urbana de la Ciudad de México (Prado et al., 2004).

El HCH técnico esta compuesto aproximadamente por 60-70% del isómero alfa, 5-12% del isómero beta y 10-15% del isómero gamma (lindano) este ultimo es usado en las explotaciones ganaderas para el control de ectoparásitos e insectos, en la agricultura se utiliza para tratar semillas y el control de plagas en el suelo (Real y col 2004). El HCH actualmente se encuentra en desuso por parte del ejecutivo federal (CICOPLAFEST, 2005).

Probablemente el plaguicida HCH técnico se esta usando debido a su bajo costo en comparación con el lindano puro o se esta comercializando lindano contaminado con isómeros α y β de HCH. debido al escaso y deficiente control oficial sobre la comercialización y uso de plaguicidas.

Lindano (γ -HCH).

Este plaguicida estuvo presente en el 6.66% del total de las muestras con un nivel promedio de 0,0013 mg/L. sin superar el LMRE establecido de 0.01 mg/L base leche, diferenciándose ampliamente por lo reportado por Prado et.al., (2004) quien reporta niveles promedio de 0.30 $\mu\text{g/g}$ base grasa de leche materna, para la zona urbana de la Ciudad de México.

El control oficial del Lindano debe orientarse al grado de pureza de los preparados autorizados para evitar en lo posible la presencia innecesaria de isómeros α y β del HCH, que tienen

limitada efectividad insecticida y que por el contrario contaminan innecesariamente el ambiente (Real et al., 2004). Por otra parte se ha encontrado una mayor persistencia en el isomero β -HCH con respecto al α -HCH no obstante estar presente en menor porcentaje en el producto técnico (Prado et al., 2004).

Aldrin + Dieldrin.

De estos plaguicidas ciclodiénicos clorados se encontraron residuos en el 18,33% del total de las muestras la concentración promedio de 0,003 mg/L, solamente 1 muestra superó el LMRE establecido de 0,006 mg/L base leche. Prado reporta concentraciones muy elevadas de dieldrin en la zona urbana de México en el 2004 con un nivel del (1,71 μ g/g) mientras que para el aldrin lo encontró en 0,30 μ g/g, base grasa en leche materna.

El aldrin es estable a altas temperaturas (>200 °C); es transformado en dieldrin por los organismos vivos. La degradación de estos plaguicidas se ha estimado en 14 y 6 años respectivamente (Pinto et al., 1990), en el país estos están clasificados como prohibidos para su importación, fabricación, formulación, comercialización y uso, pero anterior a esto fueron usados extensamente y tal vez se siguen usando en cultivos de sorgo, maíz, y cereales en general así como para tratar semillas, el aldrin se usó para controlar plagas de: babosas, caracoles, chapulines, diabroticas, gusanos de alambre, gusanos trosadores, hormigas, termitas y muchos tipos de insectos del suelo mientras que el dieldrin fue usado para controlar cucarachas, hormigas y mosquitos (Pinto et al., 1990). Al parecer el alto poder residual y el uso extensivo pudieran ser la causa principal de su presencia en las muestras analizadas.

Heptacloro + su epóxido.

Se encontraron en el 21,66% de las muestras analizadas con un valor promedio de (0,0012 mg/L) base leche, 2 muestras superaron el LMRE establecido de 0,006 mg/L, en el estudio realizado por Prado et al., (2004), en la ciudad de México, se reportan niveles promedio para este plaguicida y su metabolito en 0,40 μ g/g base grasa, mientras que en otro estudio realizado por Alawi et al., en (1992) reporta 1,269 μ g/g base grasa de leche materna en Sonora.

El heptacloro esta considerado como prohibido y en desuso en el catalogo oficial de plaguicidas 2005 editado por la CICOPALFEST. La presencia de este plaguicida en la leche materna puede deberse al abuso en el uso del clordano el cual esta constituido técnicamente por 20% del isómero alfa, 40% del gamma, 10 % de heptacloro y el resto por diversos compuestos clorados no identificados, el clordano esta permitido para su uso en México contra plagas urbanas, lo que representa un riesgo para las familias mexicanas, se debe tener la capacidad para detectar aquellos usuarios que no cumplen apropiadamente con la normatividad vigente.

El heptacloro se ha empleado principalmente para tratar el suelo y protección de semillas así como para el control de chapulines, gusano de alambre, hormigas, picudos y trazadores , es muy persistente (Pinto et al., 1990). Tal vez la presencia de este plaguicida en las muestras estudiadas se deba a que se utiliza en la producción de materia prima (semillas, granos y cultivos) que son empleados posteriormente en la elaboración de concentrados para alimentos pecuarios.

DDT total.

Se presento en el 37% del total de las muestras y en ninguna de ellas se rebasa el LMRE establecido del 0,02 mg/L., el resultado promedio obtenido en este estudio fue de 0.0017 mg/L base leche. Diferenciándose por mucho de estudios realizados anteriormente Terrones et al., en el (2000) reporta niveles promedio del (2,053 µg/g) base grasa en leche materna. Mientras que Elvia et al., reporta en el (2000) para leche materna, residuos promedio del 4,4'-DDT en (1,83 mg/kg) para la ciudad de México, en Cuernavaca reporta (0,66 mg/kg), encontrando los más altos niveles en una zona rural Morelos con (3,13 mg/kg), Waliszewski et al., en Veracruz reporta un nivel promedio de (4,70 mg/g) en el (2001), que se diferencia del estudio realizado por Prado et al., (2004), el cual reporta altos niveles de residuos en leche materna en la zona urbana de México con un promedio de (1,11 µg/g) base grasa.

El 4,4'-DDE metabolito del 4,4'-DDT se encontró en el 100% de las muestras con un promedio de (0.0079 mg/L) base leche. 10 muestras rebasaron el LMRE establecido de (0.02 mg/L) diversos estudios realizados anteriormente muestras diversas concentraciones dependiendo de la zona monitoreada. Elvia et al., en el (2000) encontró niveles del (2.49 mg/kg) en la ciudad de México, mientras que en Cuernavaca reporta (4.28 mg/kg) y los más altos niveles al igual que el 4,4'-DDT lo encontró en una zona rural de Morelos en un nivel promedio de (13.32 mg/kg) dejando en claro que las zonas rurales son las más expuestas por el uso directo de agroquímicos. Del 4,4'-DDT total más metabolitos el 4,4'-DDE es el compuesto que se encuentra en mayor porcentaje (Waliszewski et al., 2001).

Los residuos de 4,4'-DDT y sus metabolitos merecen consideración aparte, mientras en países industrializados comienza a declinar su uso a principios de la década de los sesenta, debido a las restricciones cada vez mayores y por sus efectos tóxicos, en México por razones de cuestionable análisis costo-beneficio, se siguen empleando en programas oficiales de control de vectores para enfermedades (Paludismo, Dengue). La aparición de 4,4'-DDT como residuo en el presente estudio indica que se ha utilizado recientemente por lo tanto representa un riesgo para la población en general en especial los lactantes quienes son más susceptibles.

Mientras en países que proscribieron el uso de 4,4'-DDT, desde 1973 dado su carácter residual y persistencia se encuentran aun residuos en concentraciones altas del plaguicida original como del resultado de su transformación (4,4'-DDE, 4,4'-DDD y 4,4'-DDT), es de esperar que en México donde aun se usa restringidamente se detecten concentraciones altas en zonas donde se usa ampliamente en el control de vectores. Los metabolitos de 4,4'-DDT dado que conservan efectos biológicos detrimentales, con fines regulatorios se suman todos al compuesto al original y se reportan como concentración del compuesto parental (Real et al. 2004).

La evaluación de los efectos tóxicos crónicos en la población dado el carácter multicausal del proceso salud enfermedad y las múltiples variables involucradas en el efecto nocivo, es difícil; pero no se pueden descartar, con el conocimiento científico actual, el empleo de la investigación toxicológica básica, basada en la investigación con animales de laboratorio y

sistemas submamíferos. El consenso científico internacional (OMS) a este respecto es determinante (Real et al., 2004).

Las deficiencias regulatorias en México, relacionadas con la inexistencia de LMR de plaguicidas fijados legalmente para leche y otros alimentos favorece su uso indiscriminado. Es urgente fijar concentraciones máximas permitidas e instrumentar un control oficial al respecto, solo recientemente se ha propuesto una Norma Mexicana destinada a establecer metodologías analíticas destinadas a cuantificar los niveles de plaguicidas en alimento leche bovina (Noa, 2006).

Los residuos de plaguicidas organoclorados en leche materna son un problema de salud pública que debe ser abordado para su solución por las autoridades de salud, en conjunto con investigadores y autoridades además de la concientización de los productores de alimentos y consumidores en general, con el propósito de garantizar la salud de las futuras generaciones en especial los lactantes.

Los residuos de plaguicidas organoclorados detectados en leche materna de madres que viven en la zona metropolitana de Guadalajara indican que la población probablemente esta siendo expuesta a ellos a través de alimento contaminados, constituyendo particularmente un riesgo la presencia de Aldrin-Dieldrin y Heptacloro quienes al menos en una muestra rebasaron los límites máximos de residuos fijados por la OMS. su presencia indica que probablemente se sigan utilizando pese a estar prohibidos a nivel mundial y en México en la mayoría de los casos.

CONCLUSIONES

- El 100% de las muestras de leche materna de madres residentes de la zona metropolitana de Guadalajara presentaron contaminación por plaguicidas organoclorados.
- Los plaguicidas que no rebasaron el LMR las muestras de leche materna estudiadas son Lindano, 4,4'-DDT y ($\alpha+\beta$)-HCH, no obstante se debe prestar atención a estos compuestos pues aunque se encuentran por debajo del límite máximo de residuos se comprobó su presencia en el 3,7, 3,3 y 28,33 % del total de las muestras respectivamente.
- El Heptacloro + Heptacloro epóxido, estuvo presente en un 21,66% del total de las muestras y solamente 2 muestras se encontraron con concentraciones violatorias levemente por encima de la normatividad.
- El Aldrin y Dieldrin aparec en el 18,33 % de las muestras, aunque no se encontraron en concentraciones violatorias, este plaguicida fue catalogado como prohibido en México desde el 3 de enero de 1991, en el caso de que realmente se hallan dejado de usar no ha transcurrido el tiempo suficiente para que desaparezca del medio ambiente que es de 20 años.
- La contaminación de la leche con 4,4',-DDT indica una contaminación reciente ya que este plaguicida esta restringido su uso a el ejecutivo federal, sumada a la tendencia histórica decreciente de este compuesto.
- La aparición del 4,4',-DDE, metabolito del 4,4'-DDT en el 100% del total de las muestras demuestra la ubicuidad del compuesto parental y en el caso de seguirse utilizando el DDT es de esperarse una mayor concentración del DDE en este tipo de muestras biológicas.

REFERENCIAS

- (AOAC), Analytical Methods for Pesticides in Foodstuffs, 1996. 6th. Edition, edited by The Ministry of Public Health, Welfare, and Sport, The Netherlands.
- Albert, L. 1999. La investigación sobre plaguicidas en México, situación actual y perspectivas, III Congreso Mexicano de Toxicología. 3, 4 y 5 de noviembre, Ciudad Obregón, Sonora, México, p. 13 -14.
- Albert, L. J. Rendón 1988. Contaminación por compuestos organoclorados en algunos alimentos procedentes de una región de México. Rev. Saúde Pública., (S. Paulo) 2(6):500-506.
- Alfredo, E. P. 2003. Una Investigación Encontró Plaguicidas Organoclorados Prohibidos, como el DDT, Mirex y Endosulfan en Leche Materna. Online consultado 22 Junio 2006, 33er Congreso Argentino de Pediatría. www.ecoportel.nct/conten/view/full/34914.
- Alpuche, G. L. 1991. Plaguicidas organoclorados y medio ambiente. Rev ciencia y desarrollo vol. XVI num. (90): pag. 45-55.
- Anónimo 2000. Non-Ag Pesticides Market Growing. Global Pesticide Campaigner (Volume 10, Number 2), August 2000.
- Arias, V. J. A., D. R. Companioni, C. G. Dieckmeier, B. C. Riera, C. N. Cabrera. 1990. Plaguicidas organoclorados, serie vigilancia 9. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, p. 5-8.
- Blüthgen, A., Tuinstra, L. G. M. T. 1997. Pesticides in Monograph on Residues and Contaminants in Milk and Milk Products, published by FIL/ IDF, Brussel, Belgium.
- Castorina, R., Bradman, A., McKone, T.E., Barr, D.B., Harnly, M.E., Eskenazi, B 2003. Cumulative organophosphate pesticide exposure and risk assessment among pregnant women living in an agricultural community. A Case Study from the CHAMACOS Cohort. Environmental Health Perspectives vol 111 N° 13.
- CICOPLAFEST. 2005. Catálogo Oficial de plaguicidas. Secretaría de Agricultura, Ganadería y desarrollo Rural, Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, Secretaría de Salud y Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, México D.F.
- Coscolla, R., 1993. Residuos de plaguicidas en alimentos vegetales. Ed. Mundi prensa. p. 25-27.
- Daston, G., Faustman, E., Ginsberg, G., Fenner-Crisp, P., Olin, S., B. Sonawane, B., Bruckner, J., Breslin, W. 2004. A framework for assessing risks to children from exposure to environmental agents. Environmental Health Perspectives, vol 112. N° 2.

Elvia, I.F., H.D. Sioban, H.P. Bernardo, C.S. Carrillo, 2000. Organochlorine pesticide exhibition in rural and urban areas in México. *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.* Jul-Aug: 10(4): 394- 399.

FAO/OMS, 2006. (on line). Normas Oficiales del Codex Alimentarius. (LMR plaguicidas). Tomado de la red el 05/12/06. www.codexalimentarius.net/index_es.stm.

FDA 1999. Food and Drug Administration. U.S. Pesticide residue monitoring program. *J. AOAC International*. 82(3): 612- 624.

Fernicola, N.A.G.G., 1985. Toxicología de los insecticidas organoclorados. *Bol. Of. San. Panam.* Washington, D.C. p. 10 – 18.

FIL/IDF 1991. International Standard 75C. Milk and Milk products: Recommended Methods for Determination of Organochlorine Compounds (Pesticides). Brussels, Belgium.

Gladen, B.C., S.C. Monaghan, E.M. Lukyanova, O.P. Hulchiy, Z.A. Shkyryak-Nyzhnyk, J.L. Sericano 1999. Organochlorines in milk of the chest of two cities in Ukraine. *Salud Environ. Perspect.* 107(6): 459-462.

Hatch, R. C. 1982. Poisons causing respiratory insufficiency, in veterinary pharmacology and therapeutics, edited by Booth, N. H. and McDonald, L. E.: 5th. Edition. The Iowa State University Press, Ames, USA.

INEGI 2001. Estados Unidos Mexicanos Panorama Agropecuario VII Censo Agropecuario.

Instituto Nacional de Ecología. 2004. El lindano en México. actividades de preparación del Plan Nacional de Implementación (PNI) de la convención de Estocolmo. www.ine.gob.mx/dgicurg/download/proyectos (2003).

Joseph, D., Rodei. 2002. manual de toxicología veterinaria. Ed Barcelona Multimedia España.

Kumar, A., Dayal, P., Shukla, Singh., Joseph, PE. 2006. DDT and HCH residue load in mother's breast milk: a survey of lactating mother's from remote villages in Agra region. *Environ Int*; 32(2), pp-248-251.

Mallatou, H; Pappas, C P; Albanista A. 2002. Behaviors of pesticides lindane and methyl parathion, during manufacture, ripening and storage of feta cheese. *International Journal of Dairy Technology*. Vol. 55 (4): 211- 216.

Mexpest 1999. Mexican use of unregistered US pesticides (MEXPEST Case). <http://www.american.edu/TED/class/>. Monograph on Residues and Contaminants in Milk and Milk Products, edited by FIL/ IDF: 84- 98.

Noa, M., Perez, N., Díaz, G., Vega, S. 2005. Cromatografía de gases y de líquidos de alta resolución aplicación en el análisis de alimentos. UAM-Xochimilco, Académica CBS, Edit. UAM 1ª edición, p 233-236.

Noa, P.M., F.N. Pérez, T.R. Gutiérrez, M. A. Escobar, 2001. Los residuos en leche: importancia y problemática actual en México y en el mundo. Serie Académica CBS, Universidad Autónoma Metropolitana. 133-135 pp.

Pinto, M., L. Montes, G. Anrique, R. Carrillo, R. Tamayo, V. Cristo, 1990. Residuos de plaguicidas organoclorados en leche de vaca y su relación en alimentos para uso animal como fuentes de contaminación. Arch. Med. Vet. . XXII No. 2. p. 143-153.

Prado, G. Díaz, G. Noa, M. Méndez, I. Cisneros, I. Castoreña, F. Pinto M. 2004. niveles de pesticidas organoclorados en leche humana de la Ciudad de México. Agro Sur, Vol 32, N° 2, pp. 60-69.

Prado, G., G. Díaz, S. Mar, Vega y León, M. González, N. Pérez, G. Urban, R. Gutiérrez, A. Ramírez, M. Pinto, 1998. Residuos de Plaguicidas en Leche Pasteurizada Comercializada en la ciudad de México. Arch. Med. Vet. XXX, No 1, p. 55-66.

Prado, G., Noa, M. Díaz, G. Méndez I., Escobar I., Vega, S. Urbán, G. Gutiérrez, R. 2001. Niveles de plaguicidas organoclorados en leche recombinada de la Ciudad de México. Revista de Salud Animal 23(3): 200- 205.

(RAPAM). Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México. 1996. DDT y clordano seleccionados por la CCA para elaborar un plan regional de reducción y control. Mayo-Agosto Boletín 14, p. 2-3.

Real M., Ramírez A., Pérez E., Noa M. 2004. Residuos de plaguicidas organoclorados en leche cruda y pasteurizada de la zona metropolitana de Guadalajara, México. Rev. Salud Anim. Vol. 25 (en prensa).

Reed, A. Dzon, L. Loganathan, BG. Whalen, MM. 2004. Immunomodulation of human natural killer cell cytotoxic function by organochlorine pesticides. Hum Exp Toxicol Vol.23, Iss. 10; pg. 463-71.

Repetto, M., 1995. Toxicología Avanzada. Ed. Díaz de Santos. pp 557, 558.

Rivas-Fito, N., Cardo E., Sala, M., Eulalia de Muga, M., Mazon, C., Verdu, A., Kogevinas, M., Grimalt, JO., Sunyer, J. 2003. Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants. Pediatrics. 111(5 Pt 1):e580-5

Riveron, C., Raul. 1995. Valor inmunológico de la leche materna. Rev Cubana Pediatr. v. 67 N° 2 la Habana Cuba.

Rocha-Gutierrez, B. A. 2005. method development for pesticides analysis in breast milk using stir bar sorptive extraction followed TD/GC/MS. Master of science, departament of chemistry. University of Texas at el Paso.

Roos, A. H., Tuinstra. L. G. M. Th. 1991. Chlorinated Pesticides, Chapter 5.

Ruiz A. 2001. Antecedentes de los Compuestos Orgánicos Persistentes en México. www.greenpeace.org.mx/php/doc.php.

Shibamoto, T., L.F. Bjeldanes, 1993. Introduction to Food Toxicology. Ed. Academic. Press. p. 141 – 156.

Simental, C. 1986. Agroquímicos Insecticidas. Departamento Editorial Universidad de Guadalajara p. 21 –34.

Stivje, T. & Cardinale, E. 1974. Rapid determination of chlorinated pesticides, polychlorinated biphenyls and number of phosphate insecticides in Fatty Foods. *Mitt. Lebensmittelunters. Hyg.* 65. 135-150.

Terrones, M.C., Llamas, J., Jaramillo, F., Espino, M.G., Leon, J.S. 2000. DDT and related pesticides in maternal milk and other tissues of healthy women at term pregnancy. *Ginecol Obstet Mex.* Mar; 68 pp 97 – 104.

Torres, A. L., López, C. L., Torres, S. L., Cebrian, M., Rueda, C., Reyes, R., López, C. M. 1999. levels of dicloro-diphenyl-trichloroetane (DDT) metabolites in maternal milk and their determinant factors. *Archives of Environmental Health, Proquest Medical Library.* p-124-129.

Waliseski, SM., Aguirre, AA., Infanzon, RM., Silva, CS., Silicco, J. 2001. Organochlorine pesticide levels in maternal adipose tissue, maternal blood serum, umbilical blood serum, and milk from inhabitants of Veracruz, Mexico. *Arch Environ Contam Toxicol.* Apr; 40(3): 432-8.

WHO (Organización Mundial de la Salud). 1990. Public health impact of pesticides used in agriculture. Ed. WHO. Geneva. pp 178.

Zuweg, Gunter. 1964. Analytical methods for pesticides plant growth regulators and food additives Vol II insecticides. Academic press.