

# Determinación de plaguicidas organoclorados en leche materna en Costa Rica\*

Virginia Umaña

Facultad de Medicina, Universidad de Costa Rica

Manuel Constenla

Centro de Investigación en Contaminación Ambiental, Universidad de Costa Rica

(Recibido para su publicación el 24 de mayo de 1984)

**Abstract:** DDT and DDE were detected in the milk of 51 nursing mothers in Costa Rica. In the provinces of Puntarenas, Guanacaste and Limón, where a campaign against malaria took place during the last three decades and where crops are intensively sprayed, the amount of total DDT ranges from 0.12 to 2.60 ppm (mean 1.27 ppm), comparatively, the data of total DDT yielded an average of 0.11 ppm (range 0.01-1.22 ppm) in the provinces of San José, Heredia and Cartago, not so intensively exposed to pesticides. Higher concentrations of the metabolite DDE in 100% of the samples indicated chronic contaminations.

Centroamérica no ha escapado al impacto de los plaguicidas. Debido a su clima, a la presencia de la malaria, a la exhuberancia de su biota y a la agresividad de sus plagas, el uso y abuso de los plaguicidas organoclorados ha sido intenso por varias décadas.

La resistencia del DDT a la degradación hace que permanezca en el ambiente durante muchos años, y su solubilidad en las grasas de los seres vivos lo concentra en las cadenas alimentarias. El ser humano, situado en la cúspide de los niveles tróficos, lo recibe concentrado. La ingestión no es la única forma de contaminación. La cantidad de residuos que el hombre recibe es mayor si vive en los sitios de fumigación o en sus cercanías. Investigaciones realizadas en varias partes del mundo muestran que los habitantes de las zonas maláricas y de agricultura intensiva presentan mayor grado de contaminación por DDT que los pobladores de otras regiones (De Campos y Olzyna-Marzys, 1979; Winter *et al.*, 1976).

Un excelente indicador del grado de acumulación del DDT y sus metabolitos en el organismo humano es su cuantificación en la leche. La

primera comunicación al respecto data de 1951, cuando se encontró DDT en leche humana (Laung *et al.*, 1951). Posteriormente West (1964) describió la presencia de DDE en ella. Numerosos estudios en diferentes países confirmaron estos hallazgos. Según Albert (1981), las concentraciones de DDT total en leche materna son mucho más elevadas en los países en desarrollo, particularmente en Guatemala y en El Salvador. En Costa Rica carecíamos de datos al respecto.

La presente investigación se hizo con el fin de determinar la concentración de DDT y sus metabolitos en la leche humana de Costa Rica. También se hizo el estudio comparativo de los resultados en diferentes zonas geográficas del país.

## MATERIAL Y METODOS

Se empleó acetónitrilo, hexano, metanol e isooctano, grado plaguicida, de Fisher Scientific Co. De la misma procedencia se empleó sulfato de sodio anhidro. Los patrones de plaguicidas fueron donados por la Agencia para la Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norte América (Environmental Toxicology Division, N.C., U.S.A.).

Las muestras fueron colectadas por extracción directa en frascos de boca ancha de 120

---

\* Financiado por el Convenio GOCR-AID, Fondo de dos etapas; el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) y por la Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica.

ml de capacidad. El lavado previo de los frascos, lo mismo que toda la cristalería usada en esta investigación, se hizo siguiendo las instrucciones de la Agencia para la Protección Ambiental de los Estados Unidos (Thompson, 1971). Las muestras de leche se mantuvieron refrigeradas durante un día y luego se las congeló a  $-10^{\circ}\text{C}$ .

Para la extracción de plaguicidas y purificación se utilizó el micrométodo de Thompson (1971) que básicamente consiste en la extracción de 2 ml de leche con acetónitrilo, partición a hexano, limpieza a través de columnas de Florisil y análisis por cromatografía de gases. Se homogenizó 2 ml con 2,5 ml de acetónitrilo en un homogenizador Virtis, y con 20 ng de aldrín en 0,1 ml de hexano, el cual sirve para controlar el grado de recuperación y como marcador del tiempo de retención en el análisis por cromatografía de gas.

La mezcla se centrifugó y el sobrenadante se colocó en un tubo de ensayo de 50 ml. La extracción se repitió 2 veces. A la suma de los sobrenadantes se agregó 25 ml de sulfato de sodio al 2% y se mezcló con la ayuda de un vibrador Vortex. La mezcla se extrajo, sucesivamente, con 5,2 y 2 ml de hexano, y el volumen se redujo a 300  $\mu\text{l}$  en un tubo concentrador de 10 ml unido a una columna micro Snyder.

La purificación se hizo con columnas de vidrio de 7 mm de diámetro, empacadas con 1,6 g de Florisil, activado por el fabricante a  $650^{\circ}\text{C}$ . En la parte superior se colocó 1,6 g de sulfato de sodio anhidro; ambos habían sido acondicionados en un horno a  $130^{\circ}\text{C}$  durante 18 horas, enfriados inmediatamente antes de empacar la columna, y ya en ella lavados con 10 ml de hexano.

Con la ayuda de una pipeta Pasteur se colocó sobre la columna el extracto obtenido en la etapa anterior (0,3 ml) y dos lavados del tubo concentrador que lo contenía, con porciones de 0,25 ml de hexano. Se eluyó con 12 ml de hexano, seguidos por 12 ml de metanol al 1% en hexano. Estos 24 ml representan la fracción I, la cual contendrá heptaclor, aldrín, pp-DDE, op-DDT y pp-DDT.

La fracción II se eluyó con una segunda porción de 12 ml de metanol al 1% en hexano. A esto se le agregó como marcador 20 ng de aldrín en 0,1 ml de hexano. El volumen de las fracciones I y II se redujo a 500 y 300  $\mu\text{l}$ , respectivamente, usando columnas micro Snyder.

Alícuotas de ellas se inyectaron en el cromatógrafo de gases.

El análisis se hizo con un Cromatógrafo Sigma I de Perkin Elmer, equipado con detector de captura de electrones. La columna de vidrio, de 1,8 m de longitud y 2 mm de diámetro interno, tenía como fase líquida 1,5% silicona OV-17/1,95% silicona OV-210, en soporte de Chromosorb W-HP 100-120 mesh. El gas portador fue  $\text{N}_2$  100% puro.

Las condiciones fueron las siguientes:

Temperatura del inyector:	275 $^{\circ}\text{C}$
Temperatura del horno:	225 $^{\circ}\text{C}$
Temperatura del detector:	275 $^{\circ}\text{C}$
Cantidad inyectada:	1 $\mu\text{l}$

Por dilución se hizo el ajuste al ámbito de concentración de los patrones.

Los plaguicidas fueron identificados por sus tiempos de retención, comparados con una mezcla de patrones de heptaclor, aldrín, p, p'-DDE y p, p'-DDT. Las concentraciones se calcularon en ppm (mg/kg) y fueron corregidas por el porcentaje de recuperación del patrón interno (aldrín). Estudios posteriores demostraron la ausencia de residuos de bifenilos policlorados (PCB) en muestras de leche materna y tejido adiposo humano en Costa Rica (R. Thiel, Com. Pers., Deutsche Gebellschaft fuer Technische [ G.T.Z. ], Darmstadt, Alemania y Centro de Investigación en Contaminación Ambiental, Universidad de Costa Rica).

## RESULTADOS

Se detectó p,p'-DDT y su metabolito principal p,p'-DDE en 100% de las muestras analizadas.

Los Cuadros 1 y 2 muestran los resultados de 51 muestras, agrupados por su procedencia según el mapa elaborado por el Ministerio de Salud (Fig. 1).

El promedio de la suma p,p'-DDE + p,p'-DDT fue de 0,11 ppm (ámbito 0,01-1,22) para la "zona no malárica" y de 1,27 ppm (ámbito 0,12-2,60) para la "zona malárica".

La Figura 2 presenta los valores promedio de la suma p,p'-DDE + p,p'-DDT por provincias. En ésta, y en los cuadros 1 y 2, puede verse que el factor determinante para una abundante acumulación del DDT en humanos (y para su aparición en la leche, como índice)

CUADRO 1

*Residuos de p,p'-DDT y de p,p'-DDE (ppm) en leche humana  
(provincias de Guanacaste, Puntarenas y Limón)*

Muestra No.	Distrito	Procedencia		p,p'-DDE	p,p'-DDT	Suma
		Cantón	Provincia			p,p'-DDE p,p'-DDT
49	C. Neily	Corredores	Puntarenas	0,90	0,11	1,01
52	Amubri	Talamanca	Limón	0,90	0,13	1,03
58	Amubri	Talamanca	Limón	1,00	0,30	1,30
60	Amubri	Talamanca	Limón	0,70	0,08	0,78
61	Amubri	Talamanca	Limón	1,10	0,20	1,30
63	Amubri	Talamanca	Limón	0,90	0,15	1,05
65	Cairo	Siquirres	Limón	0,89	0,07	0,98
85	Porvenir	Nandayure	Guanacaste	0,92	0,30	1,22
86	Porvenir	Nandayure	Guanacaste	0,40	0,05	0,45
87	Porvenir	Nandayure	Guanacaste	0,90	0,12	1,02
89	Zapotal	Nandayure	Guanacaste	0,80	0,18	0,98
90	Zapotal	Nandayure	Guanacaste	0,90	0,25	1,15
91	Porvenir	Nandayure	Guanacaste	0,12	0,04	0,16
93	Porvenir	Nandayure	Guanacaste	2,00	0,50	2,50
94	Zapotal	Nandayure	Guanacaste	0,50	0,07	0,57
96	Zapotal	Nandayure	Guanacaste	0,90	0,23	1,13
101	Amubri	Talamanca	Limón	1,90	0,60	2,50
102	Cairo	Siquirres	Limón	0,60	0,23	0,83
103	Cairo	Siquirres	Limón	1,65	0,40	2,05
106	Amubri	Talamanca	Limón	1,90	0,30	2,10
107	C. Neily	Corredores	Puntarenas	0,70	0,08	0,78
108	C. Neily	Corredores	Puntarenas	2,40	0,20	2,60
109	La Cuesta	Corredores	Puntarenas	0,10	0,02	0,12
110	La Cuesta	Corredores	Puntarenas	1,47	0,42	1,89
111	La Cuesta	Corredores	Puntarenas	1,65	0,10	1,75
112	La Cuesta	Corredores	Puntarenas	1,30	0,25	1,55
113	La Cuesta	Corredores	Puntarenas	0,90	0,13	1,03
114	C. Neily	Corredores	Puntarenas	1,80	0,38	2,18
115	C. Neily	Corredores	Puntarenas	0,89	0,08	0,97

n = 29

promedio = 1,27

ámbito = 0,12-2,60

es el uso intensivo de este plaguicida en la lucha contra la malaria y en la protección de las siembras. Los valores más altos corresponden a provincias en las cuales el DDT se ha aplicado, incluso domiciliariamente, en forma intensa durante 2 ó 3 décadas. Amubri, Talamanca, presenta los valores más altos. Precisamente es el único sitio de muestreo que se encontraba en área de ataque con DDT (Fig. 1) en 1980, año que se tomaron las muestras.

En todas las muestras de DDT aparece principalmente en la forma de p,p'-DDE.

## DISCUSION

Estudios realizados en Centroamérica sobre residuos de plaguicidas organoclorados en leche materna muestran que existe gran variación en su concentración según el uso que se haga de DDT en el lugar de procedencia de las muestras. Así, los valores mayores se encuentran en la leche materna en regiones en las que se ha usado este plaguicida intensamente De Campos y Olszyna-Marzys (1979) correlacionan

CUADRO 2

Residuos de *p,p'*-DDT y de *p,p'*-DDE (ppm) en leche humana  
(provincias de San José, Heredia y Cartago)

Muestra No.	Procedencia		Provincia	<i>p,p'</i> -DDE	<i>p,p'</i> -DDT	Suma <i>p,p'</i> -DDE <i>p,p'</i> -DDT
	Distrito	Cantón				
6	San Ignacio	Acosta	San José	0,04		0,04
7	San Ignacio	Acosta	San José	0,92	0,30	1,22
8	San Ignacio	Acosta	San José	0,03	0,01	0,04
10	San Ignacio	Acosta	San José	0,02		0,02
11	San Pedro	Sta. Bárbara	Heredia	0,05	0,01	0,06
12	San Juan	Sta. Bárbara	Heredia	0,16	0,03	0,19
13	San Juan	Sta. Bárbara	Heredia	0,06	0,01	0,07
14	San Juan	Sta. Bárbara	Heredia	0,01		0,01
15	San Pedro	Sta. Bárbara	Heredia	0,03		0,03
16	San Pedro	Sta. Bárbara	Heredia	0,18	0,03	0,21
17	San Juan	Sta. Bárbara	Heredia	0,01		0,01
18	San Pedro	Sta. Bárbara	Heredia	0,12	0,03	0,15
19	San Juan	Sta. Bárbara	Heredia	0,01		0,01
20	San Pedro	Sta. Bárbara	Heredia	0,07	0,02	0,09
55	Tuis	Turrialba	Cartago	0,05	0,01	0,06
69	San Diego	La Unión	Cartago	0,01		0,01
73	Tuis	Turrialba	Cartago	0,01		0,01
77	Tuis	Turrialba	Cartago	0,03	0,01	0,04
79	Tuis	Turrialba	Cartago	0,09	0,01	0,10
82	La Suiza	Turrialba	Cartago	0,01		0,01
88	La Suiza	Turrialba	Cartago	0,02		0,02
92	Tuis	Turrialba	Cartago	0,05	0,01	0,06

Espacios en blanco = 0,01 o no detectable

n = 22

promedio = 0,11

ámbito = 0,01-1,22

valores altos con intensa fumigación para protección de cultivos de algodón, mientras Winter *et al* (1976) los atribuyen al uso del DDT en zonas palúdicas para la erradicación de la malaria. En todo caso, los valores altos se relacionan con la aplicación intensa de DDT. Barquero (1982), en Costa Rica, correlaciona valores altos de DDT en grasa humana con uso intensivo del plaguicida, tanto con el fin de erradicar la malaria como con el fin de proteger ciertas cosechas.

El estudio realizado por Dary (1980) en Guatemala para observar la influencia del tipo de alimentación, factor sin duda muy importante, tuvo que hacerse en zonas libres de contaminación directa (zonas no fumigadas)

pues es tan grande la influencia de la fumigación que logra enmascarar la influencia del tipo de alimentación. Encontró promedios de DDT total en leche humana que van desde 0,431 ppm en zona urbana hasta 0,055 en zona rural. En su estudio, la palabra rural se refiere a zonas rurales libres de fumigación; escogió zonas con agricultura de subsistencia, que no utiliza mayores cantidades de plaguicidas, y, por supuesto, alejadas de zonas maláricas. Sólo así es posible estudiar la influencia de otros factores en la acumulación del DDT. En nuestro estudio, el factor dominante ha sido la aplicación directa del DDT en las diferentes regiones y por eso hemos circunscrito a ello este trabajo.

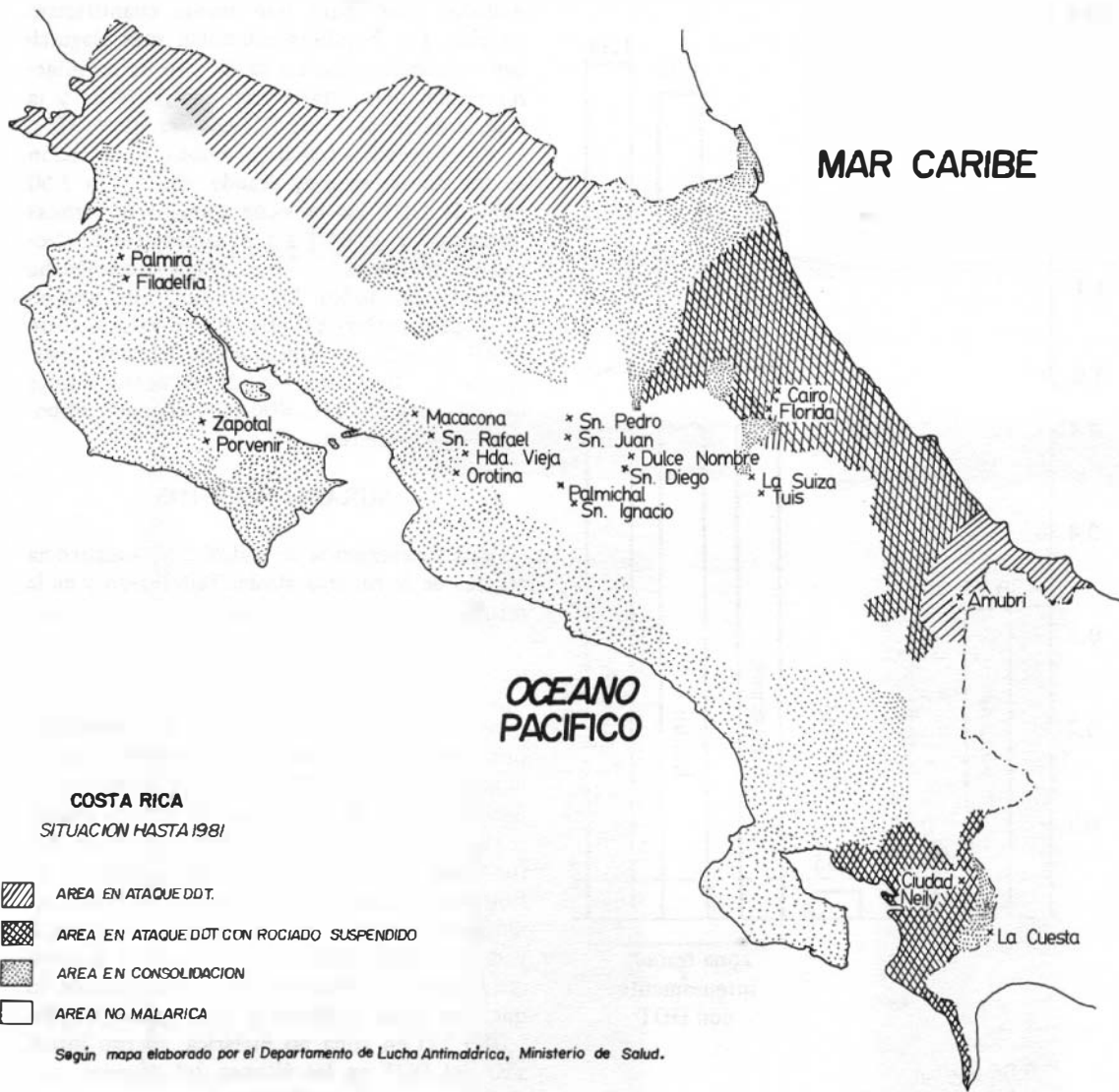


Fig. 1. Procedencia de las muestras de leche en relación con el patrón de fumigación con DDT.

También llama la atención la alta proporción de  $p,p'$ -DDE en todas las muestras analizadas. En el hombre, éste es el principal metabolito de  $p,p'$ -DDT (Morgan y Roan, 1971). Las enzimas microsomaes del hígado de los mamíferos lo transforman por deshidratación en DDE y una pequeña parte, por deoloración reductiva, en DDD, el cual rápidamente es transformado en DDA, que por ser un compuesto polar puede ser excretado por el riñón. Esto explica que la mayor parte de DDT total

aparezca como DDE.

Una alta proporción de DDE, como hemos encontrado nosotros en todas las muestras analizadas, sugiere una acumulación crónica, producto de varias décadas de uso del plaguicida (De Campos, 1978). En cambio, concentraciones relativas altas de  $p,p'$ -DDT indican intoxicación muy reciente, sin haber mediado suficiente tiempo para su metabolización.

Estos insecticidas en los mamíferos se almacenan principalmente en el tejido adiposo y en

- Dary, O. 1980. Determinación del grado de contaminación de la leche humana en Guatemala con insecticidas organoclorados persistentes. Tesis. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos, Guatemala.
- De Campos, Marit. 1978. Química y metabolismo de plaguicidas, p. 55-61. *In* Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial, (ed.). Seminario regional sobre uso y manejo de plaguicidas en Centroamérica.
- De Campos, Marit, & A. Olszyna-Marzys. 1979. Contamination of human milk with chlorinated pesticides in Guatemala and in El Salvador. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 8: 43-58.
- Laung, E.P., F.M. Kunze, & C. S. Prickett. 1951. Occurrence of DDT in human fat and milk. *Arch. Industr. Hyg.*, 3: 245-246.
- Morgan, D., & C. Roan. 1971. Absorption, storage and metabolic conversion of ingested DDT and DDT metabolites in man. *Arch. Environ. Health*, 22: 301-308.
- O'Leary, J.A., J.E. Davies, W.F. Edmunson, & G.A. Reich. 1970. Transplacental passage of pesticides. *J. Obstet. Gynecol.*, 107: 65-68.
- Thompson, J.F. (ed.). 1971. Analysis of pesticide residues in human and environmental samples. Perrine Primate Research Laboratories. Environmental Protection Agency, Perrine, Fla. Sección 5,A (2).
- West, I. 1964. Pesticides as contaminants. *Arch. Environ. Health*, 9: 626-631.
- Winter, M., M. Thomas, S. Wernick, S. Levin, & M. Taghi. 1976. Analysis of pesticide residues in 290 samples of Guatemala mother's milk. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 16: 652-657.