

RESIDUOS DE INSECTICIDAS ORGANOCLORADOS EN MANTEQUILLA DE CUATRO MARCAS COMERCIALES, ELABORADAS EN VENEZUELA

Organochlorine Insecticide Residues in Butter of Four Commercial Brands, Made in Venezuela

Biky Chacón³, Pedro Izquierdo¹, María Allara^{1*}, Egar Sánchez², Aiza García¹ y Gabriel Torres¹

¹Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología de los Alimentos (UDICTA), Facultad de Ciencias Veterinarias.

²Cátedra de Estadística, Facultad de Ciencias Veterinarias. ³Posgrado de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia. Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. maria.allara@fcv.luz.edu.ve

RESUMEN

Se determinó la presencia y concentración de residuos de insecticidas organoclorados (IOC) en cuatro marcas comerciales de mantequilla (denominadas A, B, C y D), elaboradas en Venezuela. Durante el período comprendido entre agosto y noviembre del 2007, se adquirieron un total de 28 envases de 250 g de mantequilla, siete por marca comercial, de diferentes lotes de elaboración y cada muestra fue analizada por duplicado, para un total de 56 muestras. Se utilizó la técnica de extracción líquido-líquido recomendada por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, 1997), posteriormente los extractos fueron inyectados en el cromatógrafo de gases con detector de captura electrónica (GC-ECD). El 58,92% de las muestras presentó residuos de IOC. Se encontró en mayor concentración p,p' Dicloro Difencil Dicloroetileno (p,p' DDE) (marca A), con valores de 0,0088 mg.kg⁻¹ de grasa y endrín (marcas B, C y D), con valores de 0,0136 mg.kg⁻¹ de grasa, 0,0045 mg.kg⁻¹ de grasa y 0,0038 mg.kg⁻¹ de grasa, respectivamente. Mirex no se detectó en ninguna de las muestras analizadas. No se encontraron diferencias significativas entre las cuatro marcas comerciales con respecto a la concentración de IOC. Al comparar la concentración de los residuos con los límites máximos de residuos (LMRs) se encontró que, para endrín se excedieron estos LMRs con mayor frecuencia: nueve muestras de la marca A, ocho de la marca B, cuatro de la marca C y tres de la marca D; seguido de p,p' DDE: cinco muestras de la marca A y uno de la marca B, constituyendo un riesgo para la salud del consumidor. En conclusión, en los lotes evaluados se detectó una elevada frecuencia y concentración de residuos

de IOC, por lo que se recomienda la realización de programas de monitoreo de estos compuestos químicos en las mantequillas elaboradas en el país.

Palabras clave: Insecticidas organoclorados, mantequilla, cromatografía de gases.

ABSTRACT

Presence and concentration of organochlorine insecticide residues (OCI) in four commercial brands of butter made in Venezuela (named A, B, C and D) were determined. Between the period of August and November of 2007, 28 samples of butter were collected, seven for each commercial brand. Each sample was analyzed by duplicate, totalizing 56 samples. Liquid-liquid extraction recommended by the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1997) was performed, after that extracts were injected in a gas chromatograph equipped with electron capture detector (GC-ECD). 58.92% of analyzed samples with OCI residues reached 58.92%. The residues found in higher concentration were p,p' dichloro diphenyl dichloroethylen (p,p' DDE) (brand A), with values of 0.0088 mg.kg⁻¹ of fat and endrin (brand B, C and D) with values of 0.0136 mg.kg⁻¹ of fat, 0.0045 mg.kg⁻¹ of fat and 0.0038 mg.kg⁻¹ of fat, respectively. Mirex wasn't detected in none of the studied brands. No significant differences between commercial butter brands were found in OCI concentration. When comparing concentration of residues with maximum residue limits (MRL), it was found that endrin exceeded MRL with the highest frequency: nine samples of brand A, eight of brand B, four of brand C and three of brand D; followed by p,p' DDE: five samples of brand A and one of brand B. As a conclusion, a high frequency and concentration of OCI residues in butter

made in Venezuela was found. It is recommended to enhance the supervision and control of this chemical compounds in butter made in this country.

Key words: Organochlorine insecticides, butter, gas chromatography.

INTRODUCCIÓN

Los insecticidas organoclorados (IOC) comenzaron a ser utilizados en Venezuela a partir de 1944 para el control de la malaria [25]. En la década de los setenta se estableció a nivel mundial la restricción de su uso, debido a la acumulación en el tejido adiposo de animales y humanos, y su biomagnificación en la cadena alimentaria, originando la agrupación de estos compuestos bajo el nombre de contaminantes orgánicos persistentes (COP). Esta restricción se ha aplicado principalmente en usos agrícolas y sanitarios de países desarrollados y progresivamente en países en desarrollo [41].

En el año 1978, el gobierno venezolano prohibió la aplicación de IOC en productos agrícolas a ser cosechados de inmediato, o que estén aptos para ser llevados al mercado y que, en especial, sean de ingestión directa [28]. Sin embargo, entre 1972 y 1981, se aplicaron en el país aproximadamente 17.433 Ton de IOC [6]. Como consecuencia de su uso y debido a su elevada persistencia es posible la presencia de residuos de IOC en los ecosistemas venezolanos.

El paso de insecticidas desde el medio ambiente a la leche se produce al suministrar a las vacas (*Bos taurus*), plantas que fueron fumigadas sin respetar los plazos de espera, al efectuar el fumigado en forma descuidada en cultivos de vegetales próximos o bien la utilización de preparados de insecticidas en la lucha contra insectos y otros parásitos [27]. La ingestión de alimentos contaminados ha sido reportada como la principal fuente de contaminación por insecticidas en leche bovina [19].

La leche es una forma de eliminación de los IOC del cuerpo de los animales mamíferos [7]. El consumo de leche y sus derivados están entre las principales vías de ingreso de residuos de insecticidas en el hombre, por lo que ha sido utilizada como indicador de la exposición a IOC [21, 42].

Diferentes estudios han reportado la presencia de residuos de IOC en leche y sus derivados en Venezuela. En la región zuliana a partir del año 1975, mediante trabajos realizados en leche cruda, leche pasteurizada, leche en polvo, queso y mantequilla [9, 25, 34]. En el año 2000, Izquierdo y col. [15] en 30 muestras de leche cruda proveniente del estado Zulia reportaron concentraciones promedio que excedieron los límites tolerables establecidos por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y la Organización Mundial de la Salud (FAO/WHO). En 2003, Izquierdo y col. [16] estudiaron muestras de queso fresco y madurado; las concentraciones promedio, expresadas en mg.kg^{-1} de grasa

fueron lindano 0,43, clordano 0,49, heptaclor 0,11, aldrín 0,15, dieldrín 0,68, endrín 0,74 y Dicloro Difenil Tricloroetano (DDT) 0,25, obteniéndose diferencias significativas con respecto a lindano y clordano. Recientemente, Medina y col. [23], reportaron en yogurt, que el 88,9% de 54 muestras presentó residuos de IOC.

La mantequilla presenta un contenido de grasa aproximado de 80%, debido a esto los IOC se pueden acumular en este alimento constituyendo una forma de contaminación para el hombre. Las concentraciones de IOC se incrementan durante el procesamiento de productos lácteos así, se ha descrito que la mantequilla elaborada a partir de leche que contiene $0,9 \text{ mg.kg}^{-1}$ de grasa de DDT) y $0,98 \text{ mg.kg}^{-1}$ de lindano, contenía 19,2 y 20 mg.kg^{-1} de IOC, respectivamente, con concentraciones mayores en el producto lácteo en comparación con la leche a partir de la cual se derivó [7]. Esto podría deberse a la afinidad de los IOC por la porción lipoproteica de los productos [20].

Aunque no se cuenta con cifras de consumo de mantequilla en Venezuela, para el año 2007 había una disponibilidad de 2.274,99 millones de litros de leche, de los cuales el 55% correspondió a producción nacional y el 45% de leche importada. De la producción nacional, el 1,4% fue destinado a usos diferentes del consumo en forma de leche pasteurizada, leche de larga duración, bebidas lácteas y elaboración de queso [8].

Diferentes estudios [3, 7, 18, 22, 31, 39, 40] en otros países han reportado la presencia de residuos de IOC en mantequilla. En Venezuela Ruiz [30], en el año 1980 detectó una elevada incidencia en mantequilla. El objetivo del presente trabajo fue identificar y cuantificar los residuos de IOC en cuatro marcas comerciales de mantequilla elaborada en Venezuela y compararlos con los Límites Máximos de Residuos (LMRs) establecidos por la FAO/WHO [11].

MATERIALES Y MÉTODOS

Población y muestra

Se seleccionaron cuatro marcas comerciales de mantequilla, denominadas A, B, C y D, de distribución a nivel nacional; dos de las marcas provinieron del estado Zulia: la marca A del municipio San Francisco, (B) zona Sur del Lago de Maracaibo, (C) estado Mérida y (D) zona Centro Oriental del país. Las muestras en envases de 250 g, fueron adquiridas en supermercados de la ciudad de Maracaibo, en siete fechas distintas, de diferentes lotes de elaboración, durante el período comprendido entre los meses de agosto a noviembre, 2007 y se almacenaron a -18°C en un congelador horizontal White Westinghouse® (EUA) hasta su procesamiento. Se tomaron un total de 28 envases, siete por marca y cada muestra fue analizada por duplicado, para un total de 56 muestras.

Determinación de residuos de IOC

Se utilizó el método oficial 970.52 de extracción líquido-líquido propuesto por la AOAC [5], que comprende las etapas de extracción de la grasa, partición con acetonitrilo, limpieza con florisil e inyección en el cromatógrafo de gases con detector de captura electrónica.

Especificaciones del cromatógrafo de gases (GC)

Se empleó un cromatógrafo de gases marca Shimadzu®, modelo GC-14B (Japón) equipado con un inyector split/splitless y un detector de captura electrónica. Se utilizó nitrógeno como gas de arrastre, a un flujo lineal de 25 cm/seg y una columna capilar de sílice fundida PTE/5 marca Supelco® 5% fenilmetil siloxano (30 m x 0,25 mm de diámetro interno/0,25 µm). El volumen de inyección fue de 1 µL. La temperatura inicial del horno fue 200°C durante los primeros cinco minutos (min) y se elevó linealmente hasta 275°C a razón de 8°C/min, la temperatura final se mantuvo por dos min, para un tiempo de 22 min por cada corrida. La temperatura del detector fue 310°C y la del puerto de inyección 260°C [17]. Las áreas de los picos se integraron utilizando el software Shimadzu Shim-Pack Class Vp Versión 4.2 1996 (Japón).

Identificación de los IOC

Con la finalidad de identificar los IOC, se compararon los tiempos de retención de los picos en las muestras con la mezcla preparada a partir de los estándares: mirex 98%, endosulfán 98%, marca Polyscience® (Niles, Illinois, EUA) kit 51c/51cx, diluido en benceno al 1%, aldrín 98,6%, dieldrín 98,7%, heptacloro 99,1%, DDT (mezcla o,p'-p, p', 5% o,p', 94% p,p), p,p' Difenil Dicloroetileno (p,p' DDE) 99,1%, metoxicloro 98,9%, endrín 98,2%, hexaclorobenceno 99% y lindano 99,5% marca Chem Service® (West Chester, PA, EUA), diluidos en hexano: éter etílico (1:1).

Se preparó una solución madre de una mezcla de los estándares, con una concentración de 400 mg.L⁻¹, posteriormente se preparó una solución intermedia de 10 mg.L⁻¹, finalmente, se prepararon mezclas de estándares de 1; 0,075; 0,05; 0,025; 0,012; 0,006 y 0,003 mg.L⁻¹.

Cálculo de la concentración de IOC

La cuantificación de los residuos de IOC en las muestras se realizó utilizando el método del estándar externo [33], en el cual se relaciona el área del pico en la muestra con el área correspondiente al estándar de referencia. Se construyó una curva de calibración de las diferentes concentraciones de los estándares y sus respectivos valores de área, con la finalidad de comprobar la relación lineal entre ambos parámetros y así realizar la cuantificación de los residuos de IOC.

La fórmula utilizada fue la siguiente:

$$C_m = \frac{A_m \times C_{st} \times \text{Factor derivado del \% Recuperación}}{g \text{ de grasa} \times A_{st}}$$

donde:

C_m = Concentración del IOC en la muestra (mg.kg⁻¹ de grasa)

A_m = Área del analito en la muestra

C_{st} = Concentración del estándar

Factor derivado del % Recuperación = 100/% recuperación

A_{st} = Área del estándar

Sensibilidad

Se realizaron análisis cromatográficos de muestras a las que se adicionaron concentraciones de IOC entre 1 y 0,003 mg.kg⁻¹ de grasa; se consideró como límite de detección del instrumento, la concentración por debajo de la cual no era posible diferenciar la señal producida por el pico de los insecticidas de la línea base, con una relación señal/ruido tres veces mayor que la línea base.

Porcentaje de recuperación

Utilizando las muestras fortificadas por duplicado con mezclas de IOC, se determinó la relación entre la concentración adicionada y la concentración recuperada, luego del proceso de extracción.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron estudiados utilizando el análisis de la varianza (ANAVA) y el programa SAS versión 8.0 [35]. El modelo ANAVA considerado fue:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = concentración de IOC, tomada como el promedio de las dos determinaciones por muestra

μ = media general de las concentraciones de IOC

τ_i = efecto de la i-ésima marca de mantequilla. $i = 1, 2, 3, 4$

ε_{ij} = error experimental

Posterior al ANAVA, se planificó la prueba de Tukey [24] para comparar por pares las concentraciones promedio de IOC de las diferentes marcas de mantequilla.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros cromatográficos

En la TABLA I se presentan los parámetros cromatográficos del método. Los valores se encontraron en los siguientes rangos: tiempo de retención entre 6,774 min, para hexaclorobenceno y 21,541 min. para mirex; coeficiente de correlación (r) 0,9229 (metoxicloro) a 0,9994 (aldrín); porcentaje de recupera-

TABLA I
PARÁMETROS CROMATOGRÁFICOS DEL MÉTODO

IOC	Tiempo de Retención RT (min)	Curva de Calibración	Coefficiente de correlación r	% recuperación \pm desviación estándar	Límite de detección (mg Kg ⁻¹ de grasa)
Hexaclorobenceno	6,774	Y= 5878,1x	0,9978	81,65 \pm 2,74	0,003
Lindano	7,383	Y= 5023,2x	0,9982	82,99 \pm 6,66	0,003
Heptacloro	9,583	Y= 4829,6x	0,9982	83,68 \pm 3,52	0,003
Aldrín	10,818	Y= 5159,0x	0,9994	80,43 \pm 9,84	0,003
Endosulfán	13,123	Y= 3057,1x	0,9916	92,76 \pm 1,95	0,006
p,p' DDE	13,615	Y= 1595,5x	0,9757	85,06 \pm 5,66	0,006
Dieldrín	14,596	Y= 4106,9x	0,9822	74,02 \pm 14,59	0,003
Endrín	15,445	Y= 3740,1x	0,9792	62,49 \pm 7,47	0,003
DDT	16,059	Y= 2296,1x	0,9423	91,19 \pm 13,36	0,006
Metoxicloro	19,316	Y= 1364,2x	0,9229	81,11 \pm 5,81	0,006
Mirex	21,541	Y= 2353,3x	0,9420	87,82 \pm 2,15	0,006

ción entre 62,49% \pm 7,47 para endrín y 92,76% \pm 1,95 para endosulfán y límite de detección 0,003 mg.kg⁻¹ para hexaclorobenceno, lindano, heptacloro, aldrín, dieldrín, endrín y 0,006 mg.kg⁻¹ para endosulfán, p,p' DDE, DDT, metoxicloro y mirex.

Otros autores, como Costabeber y Emanuelli [10] reportaron límites de detección de 0,0002 mg.kg⁻¹ de grasa para hexaclorobenceno, 0,0004 mg.kg⁻¹ de grasa para aldrín y 0,0003 mg.kg⁻¹ de grasa para p,p' DDE; estos límites de detección mostraron valores inferiores a los obtenidos en el presente trabajo, excepto para aldrín. Por su parte, Waliszewski y col. [39] reportaron porcentajes de recuperación entre 91,0% para β -hexaclorociclohexano (HCH) y 99,1% γ -HCH, con límites de detección similares al presente estudio: 0,001 mg.kg⁻¹ de grasa para hexaclorobenceno, 0,02 mg.kg⁻¹ de grasa para aldrín, heptacloro y p,p' DDE, 0,003 mg.kg⁻¹ de grasa para endosulfán y p,p' DDT. Bulut y col. [7] reportaron porcentajes de recuperación entre 72,38% para endosulfán y 97,33% para p,p' DDT, con límites de detección entre 0,0001 mg.kg⁻¹ para α y β HCH, aldrín, dieldrín, Dicloro Difenil Dicloroetano (DDD) y DDT y 0,0003 mg.kg⁻¹ para β endosulfán.

Residuos de IOC

De las muestras analizadas, el 58,92% presentó residuos de IOC. Estos resultados son inferiores en un 15,04% a los encontrados en el país en el año 1980 por Ruiz [30], quien reportó en 96 muestras de seis marcas de mantequilla de producción nacional, una incidencia de 73,96 y 84,38% en mantequillas importadas.

Una de las razones que explican la elevada incidencia de residuos de IOC en las muestras de mantequilla analizadas es la gran cantidad de estos compuestos químicos que han sido aplicados en el país, en un principio para el control de la malaria [25]. En la década de 1960, se comenzaron a utilizar los IOC con

finés agrícolas; con el impulso de la Reforma Agraria se estimuló la agricultura y el uso masivo de plaguicidas [12, 36]. Esta situación se mantuvo durante la década de los setenta, con un modelo de explotación agrícola fuertemente basado en el uso de plaguicidas, los cuales eran utilizados sin ninguna restricción en lo tocante a tipo, cantidad y áreas a fumigar [4].

Con relación al manejo y uso de estas sustancias en el país, en el año 2007, Pierre y Betancourt [26] evaluaron el manejo de plaguicidas y la acumulación de residuos de IOC en cebolla cultivada (*Allium cepa*) en tres sistemas de producción en la depresión de Quíbor, estado Lara, Venezuela. Los autores reportaron que los IOC representaron entre el 4,2 y el 10% de los plaguicidas utilizados en los sistemas de producción evaluados, y estos fueron aplicados en concentraciones elevadas en todos los sistemas. Los productores manifestaron la creencia de que aumentando las dosis por hectárea de cualquier plaguicida mejora su efecto. El IOC utilizado fue endosulfán. Concluyeron que los sistemas de producción estudiados hacen un uso inadecuado de los insecticidas en el control químico de plagas, lo cual se refleja en la diversidad y cantidad de los productos empleados a lo largo del ciclo de cultivo. Aunque los autores no encontraron residuos de IOC en las muestras de cebolla, detectaron residuos de butaclor en concentraciones inaceptables. Debido a que este herbicida organoclorado no fue reportado como utilizado por ninguno de los sistemas de producción estudiados, se infiere que el campo pudo estar contaminado por aplicaciones realizadas en cultivos anteriores, dada la persistencia característica de los organoclorados.

Venezuela ha actualizado y mejorado la legislación que tiene que ver con los IOC, principalmente por su adhesión a convenios internacionales, como el Convenio de Estocolmo, cuyo objetivo es eliminar los COP a nivel mundial [14]. Desde el año 1992 el Reglamento General de Plaguicidas pasó a ser el instrumento central de regulación de la industria, comercio

y aplicación de agroquímicos en el país [14]. Sin embargo, en la Cordillera de los Andes Venezolanos se ha reportado en diversas ocasiones, el uso indiscriminado de IOC en el cultivo de papas y hortalizas (*Solanum tuberosum*), a pesar de que está prohibido su uso en estos cultivos. Estos compuestos han sido implicados en el estado Mérida, como los terceros en orden de incidencia en casos de intoxicación aguda [36].

Según Gil [12], unas poblaciones posiblemente contaminadas por IOC son Quíbor, estado Lara y La Colonia Tovar, estado Aragua, zonas eminentemente agrícolas donde se ha utilizado durante muchas décadas IOC de forma excesiva. En el año 2003 se reportó la existencia de grupos organizados de personas que se encargan de importar IOC prohibidos en Venezuela, que son introducidos desde Colombia o tomados de depósitos del Ministerio de Sanidad (MSAS) [37].

En otros países en desarrollo se ha reportado una incidencia de residuos de IOC aún más elevada en mantequilla: Lenardón en 1994 reportó la presencia de residuos de IOC en el 90% de 150 muestras de mantequilla elaborada en Argentina [22]. Waliszewski y col. [39] reportaron un 91% de residuos en 345 muestras de mantequilla elaborada en México.

Según Kalantzi y col. [18], varios factores influyen en la presencia de IOC en mantequilla: la concentración de los IOC en el aire, el ciclo de lactancia del animal, la estacionalidad, la influencia de suplementos en la dieta del animal, el régimen de manejo del ganado, el metabolismo de los IOC y la posibilidad de contaminación en el procesamiento.

Los principales IOC detectados fueron endrín (39,28%), p,p' DDE (17,85%), hexaclorobenceno y lindano (16,07%), DDT (12,50%) dieldrín y metoxiclor (10,71%); en menor proporción heptacloro (7,14%), endosulfán (5,35%) y aldrín (3,57%). Mirex no fue detectado. En la región central de Venezuela, Ruiz [30] reportó como principales contaminantes DDT y sus metabolitos, DDE y Tetracloro Difenil Etano (TDE) (73,96% en mantequillas venezolanas, 84,38% en mantequillas importadas y 36,46% en margarinas), aldrín/dieldrín (52,08% en mantequillas venezolanas, 40,52% en mantequillas importadas y 29,16% en margarinas) y lindano (20,83% en mantequillas venezolanas, 40,52% en mantequillas importadas y 12,5% en margarinas).

En el año 2004, Izquierdo y col. [17] reportaron que el IOC más frecuentemente detectado en muestras de fórmulas infantiles de consumo en Venezuela fue endrín (55%), seguido de DDT (37,5%), heptacloro (35%), aldrín (30%), lindano (25%), dieldrín y hexaclorobenceno (20%), mientras que clordano se detectó solamente en 7,5% de las muestras analizadas.

En México Waliszewski y col. [39] detectaron γ -HCH en el 91% de 345 muestras de mantequilla, hexaclorobenceno en el 90% y p,p' DDE en el 88%, señalando que la frecuencia de residuos refleja la extensión de la contaminación debido a su uso en la agricultura y en las acciones contra la malaria. Por otra parte, hexaclorobenceno es uno de los compuestos orga-

noclorados más persistentes, que se genera en procesos de clorinación industrial y en la agricultura.

Waliszewski y col. [40] reportaron que 86,5% de 448 muestras de mantequilla de tres marcas comerciales elaboradas en México, presentaron residuos de hexaclorobenceno, 85,5% p,p' DDE, p,p DDT 53,0%, lindano 93%. Por otra parte, Gill y col. [13] en el año 2009, en 28 muestras de diferentes marcas comerciales y de mantequilla elaborada en forma artesanal en la India encontraron que todas las muestras tenían concentraciones detectables de uno o más IOC como DDT, HCH, endosulfan y aldrín, señalando que la presencia de residuos de DDT y HCH en los productos lácteos es motivo de preocupación e indica la persistencia de esos compuestos a pesar de la restricción o prohibición de su uso en el sector agrícola o de salud pública.

El 49% de las muestras de mantequilla de la marca A, el 57% de las muestras de la marca B, el 28% de las muestras de la marca C y el 7% de las muestras de la marca D, presentaron 2 o más residuos de IOC (FIG. 1). Estos resultados parecen indicar que, en la región zuliana (lugar de procedencia de las marcas A y B), ha habido una mayor persistencia de estos compuestos químicos, que podría estar relacionada con su uso debido a la actividad agropecuaria desarrollada en el estado Zulia durante los últimos años, si se compara con lo observado en el estado Mérida (marca C) o la región centro oriental del país (marca D). Resultados similares fueron reportados en Argentina por Lenardón y col. [22], de 146 muestras de mantequilla analizadas, 23% contenía al menos cinco residuos de IOC, 20% contenía cuatro residuos y el 2% de las muestras contenía más de ocho residuos.

Medina y col. [23] en yogurt de tres marcas comerciales (denominadas A, B y C) elaboradas en Venezuela reportaron que, el 77% de las muestras de la marca A, el 72% de las muestras de la marca B y el 66% de las muestras de la marca C presentaron dos o más residuos de IOC. Los resultados del presente estudio fueron inferiores a los reportados en yogurt por Medina y col. [23] en Venezuela, lo cual podría explicarse con base a estudios de Salem y col. [31] en cinco tipos diferentes de productos lácteos, con un orden de contaminación: labaneh (yogurt de consistencia similar al queso, común en las dietas del Medio Oriente) > queso > yogurt > mantequilla > leche. Es necesario además considerar los procesos tecnológicos involucrados en la elaboración de la mantequilla, que reducen la concentración de IOC un 30% [38].

De las etapas de elaboración de la mantequilla: desnatado, pasteurización, maduración, batido y envasado, la etapa de pasteurización (72°C/15 seg y 63°C/30 min) de leche cruda contaminada con 1 mg.kg⁻¹ de grasa de lindano, reduce su concentración entre 0,1% y 43,0% [2]. Es importante considerar el efecto de la adición de microorganismos, debido a que se ha reportado en queso Ras una reducción de la concentración de DDT (0,1; 1 y 10 mg.kg⁻¹ de grasa), de 40,6, 33,9 y 25,5%, respectivamente, debido a la presencia de *Streptococos*, *Lactobacilos* y levaduras [1].

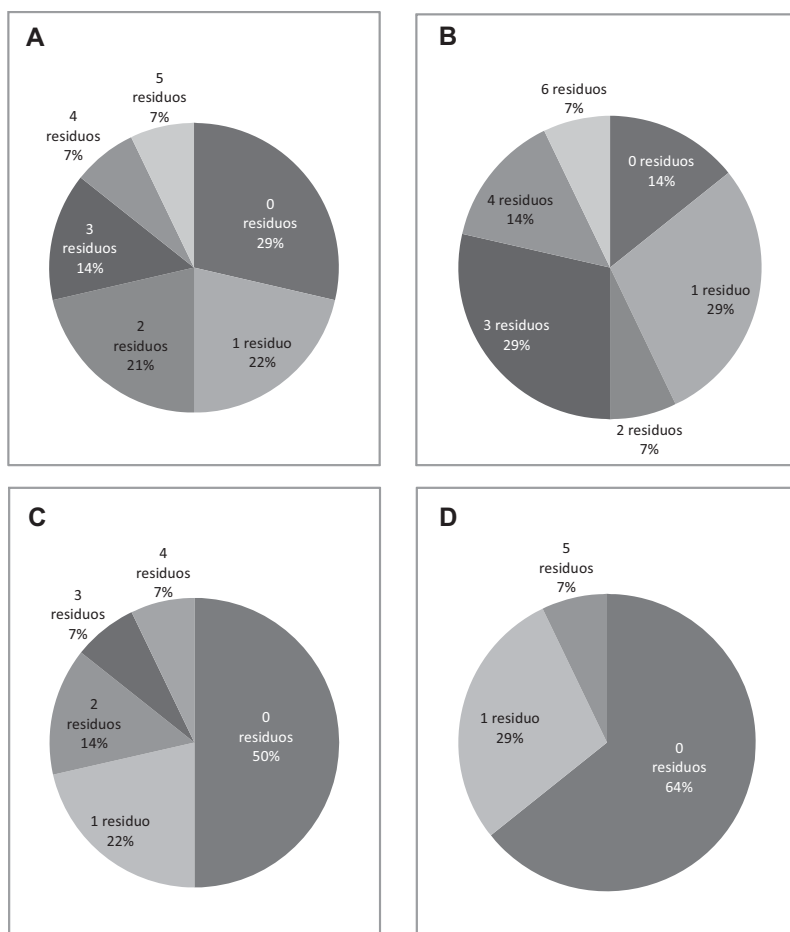


FIGURA 1. FRECUENCIA DE RESIDUOS DE IOC DE LAS MARCAS COMERCIALES A, B, C Y D DE MANTEQUILLA.

Concentración de IOC en las muestras

En la TABLA II se presenta la concentración de residuos de IOC, expresada en mg.kg^{-1} de grasa, en las cuatro marcas comerciales de mantequilla y el resultado del ANAVA. De los once IOC estudiados, diez fueron encontrados en concentraciones detectables, mientras que mirex no fue detectado en ninguna de las marcas; este resultado es similar al reportado por Medina y col. [23] en yogurt elaborado en Venezuela. En las marcas A y B, procedentes de la región zuliana, no se detectó aldrín; en el caso de la marca C (estado Mérida) no se detectó endosulfán, mientras que en la marca D (zona Centro Oriental) no se detectó endosulfán, p,p' DDE, DDT y metoxicloro.

Según el ANAVA, no se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones promedio de IOC para las diferentes marcas de mantequilla. Se encontró en mayor concentración p,p' DDE (marca A), con valores de $0,0088 \text{ mg.kg}^{-1}$ de grasa y endrín (marcas B, C y D), con valores de $0,0136 \text{ mg.kg}^{-1}$ de grasa, $0,0045 \text{ mg.kg}^{-1}$ de grasa y $0,0038 \text{ mg.kg}^{-1}$ de grasa, respectivamente. Al comparar estos resultados con lo reportado por Ruiz en 1980 [30] en mantequilla de consumo en Venezuela, los principales contaminantes fueron DDT y p,p' DDE.

En México, se ha reportado en mayor concentración en mantequilla β -HCH, $0,093 \text{ mg.kg}^{-1}$ de grasa, seguido de p,

p' DDT, $0,050 \text{ mg.kg}^{-1}$ de grasa y heptacloro epóxido, $0,047 \text{ mg.kg}^{-1}$ de grasa [39]. Por su parte, Kalantzi y col. [18] realizaron un estudio de 63 muestras de mantequilla elaboradas en 23 países. La concentración de DDT total varió entre $4,1 \times 10^{-7} \text{ mg.kg}^{-1}$ y $2,5 \times 10^{-4} \text{ mg.kg}^{-1}$, India tuvo la mayor concentración presumiblemente como resultado del uso para el control de la malaria. La concentración de α -HCH varió entre $6 \times 10^{-8} \text{ mg.kg}^{-1}$ y $9,8 \times 10^{-5} \text{ mg.kg}^{-1}$, la concentración de β -HCH entre $2 \times 10^{-8} \text{ mg.kg}^{-1}$ y $1,1 \times 10^{-4} \text{ mg.kg}^{-1}$ y de γ -HCH entre $8,8 \times 10^{-8} \text{ mg.kg}^{-1}$ y $1,8 \times 10^{-5} \text{ mg.kg}^{-1}$, los mayores valores correspondieron a la mantequilla procedente de India, seguido de China y España. Por otra parte, la concentración de hexaclorobenceno varió entre $3,4 \times 10^{-7} \text{ mg.kg}^{-1}$ y $6,2 \times 10^{-6} \text{ mg.kg}^{-1}$; este IOC es uno de los más volátiles, por lo que está distribuido en una forma relativamente homogénea en la atmósfera y se dispersa rápidamente.

Al comparar la concentración de los residuos de IOC con los LMRs establecidos por la FAO/WHO [11], se encontró que para endrín se excedieron estos LMRs con mayor frecuencia: nueve muestras de la marca A, ocho de la marca B, cuatro de la marca C y tres de la marca D; seguido de p,p' DDE: cinco muestras de la marca A y una de la marca B. Con menor frecuencia para dieldrín se excedieron los LMRs en una muestra de cada marca comercial, metoxicloro una mues-

TABLA II
**CONCENTRACIONES PROMEDIO (mg kg⁻¹ DE GRASA) DE RESIDUOS DE INSECTICIDAS ORGANOCOLORADOS
 POR MARCAS COMERCIALES DE MANTEQUILLA**

IOC	Marcas Comerciales				Significancia P	LMRs mg kg ⁻¹ de grasa
	A	B	C	D		
Hexaclorobenceno	0,0010 ^a	0,0023 ^a	0,0003 ^a	0,0006 ^a	0,1775	0,1000
Lindano	0,0007 ^b	0,0038 ^b	0,0008 ^b	0,0003 ^b	0,3984	0,0100
Heptacloro	0,0003 ^c	0,0013 ^c	0,0003 ^c	0,0002 ^c	0,6698	0,0060
Aldrín	ND	ND	0,0002 ^d	0,0006 ^d	0,5062	0,0060
Endosulfan	0,0012 ^e	0,0026 ^e	ND	ND	0,4611	0,0100
p,p' DDE	0,0088 ^f	0,0060 ^f	0,0012 ^f	ND	0,0532	0,0200
Dieldrín	0,0008 ^g	0,0013 ^g	0,0014 ^g	0,0017 ^g	0,9669	0,0060
Endrín	0,0081 ^h	0,0136 ^h	0,0045 ^h	0,0038 ^h	0,4736	0,0008
DDT	0,0006 ⁱ	0,0047 ⁱ	0,0006 ⁱ	ND	0,0637	0,0200
Metoxicloro	0,0009 ^j	0,0010 ^j	0,0028 ^j	ND	0,1456	-
Mirex	ND	ND	ND	ND	-	-

N= 56 muestras (14 por marca).

ND= No Detectado.

Valores con superíndices iguales en la misma fila, no muestran diferencias entre marcas.

P>0,05 indica diferencias no significativas.

LMRs= Límites máximos de residuos (mg Kg⁻¹ de grasa). Normas Alimentarias FAO/WHO [11].

tra de la marca A y tres de la marca C; lindano en dos muestras de la marca B y por último heptacloro, endosulfán y DDT en una muestra de la marca B. Ruiz [30] había reportado que el 14% de las muestras de mantequilla excedió los LMRs para aldrín/dieldrín, 20% para lindano, y ninguna para DDT y sus metabolitos.

En Argentina, Lenardón y col. [22] reportaron que, 5,9% de las muestras de mantequilla analizadas implicaban un riesgo con relación a la concentración de heptacloro, 3,4% con relación a aldrín/dieldrín y 1,4% con hexaclorociclohexano. Por su parte, Bulut y col. [7] en Turquía reportaron que de 16 IOC investigados en 40 muestras de mantequilla, se detectaron 15, de los cuales B-HCH, heptacloro y sulfato de endosulfán excedieron las concentraciones aceptables. Aksoy y col. [3] detectaron la presencia de B-HCH en tres de 88 muestras de mantequilla de Turquía que excedieron los límites del Código Alimentario de Turquía, (0,003 mg.kg⁻¹), debido probablemente al uso pasado en la agricultura y a su larga persistencia en el medio ambiente.

En las marcas comerciales A, B y C, la concentración de p,p' DDE fue mayor que la de DDT, lo que sugiere uso pasado de ese IOC. En la marca D, no se detectó DDT ni su metabolito p,p' DDE, que pudiera ser indicativo de que en la región Centro Oriental del país, este IOC no ha sido utilizado. Medina y col. [23] reportaron similares resultados en dos marcas comerciales de yogurt elaborado en Venezuela, lo que sugiere que en las regiones de donde provino la leche o sólidos lácteos utilizados para la elaboración del yogurt, no ha habido uso reciente del DDT.

En relación con este IOC, a partir de 1970 se ha observado una tendencia a la disminución en las concentraciones de DDT, que coincide con las restricciones en su uso a nivel mundial [32]. Según la Dirección General de Calidad Ambiental del Ministerio del Ambiente, el uso del DDT en Venezuela en la década del 80 no estaba justificado, porque había otros plaguicidas disponibles en el mercado, sin embargo en esa época las casas productoras vendían el DDT en los países en desarrollo [12]. La última compra fue realizada en el año 1995 [29], bajo el control del Ministerio de Salud y Desarrollo Social y su uso estaba restringido a situaciones de epidemia de malaria [12]. En la actualidad el Ministerio de Salud ha expresado su decisión de no utilizar el referido compuesto en el control de vectores de la malaria, por lo que ha sido sustituido gradualmente por algunos insecticidas organofosforados y piretroides [29].

CONCLUSIONES

En los lotes de mantequilla evaluados se encontró una elevada frecuencia de residuos de insecticidas organoclorados, indicativo de la persistencia de estos compuestos químicos en los ecosistemas venezolanos.

Los principales IOC detectados fueron endrín, DDT y su metabolito p,p' DDE, seguido de lindano, hexaclorobenceno y dieldrín. Los IOC endrín, p,p' DDE, dieldrín, metoxicloro, lindano, heptacloro, endosulfán y DDT se detectaron en algunas muestras en concentraciones que excedieron los LMRs, constituyendo un riesgo para la salud del consumidor.

AGRADECIMIENTO

Al CONDES-LUZ por el financiamiento del Proyecto CC-0055-11.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABOU-ARAB, A. Effects of Ras cheese manufacturing on the stability of DDT and its metabolites. **Food Chem.** 59 (1): 115-119. 1997.
- [2] ABOU-ARAB, A. Effects of processing and storage of dairy products on lindane residues and metabolites. **Food Chem.** 64 (4): 467-473. 1999.
- [3] AKSOY, A.; DERVISOGLU, M.; GUVENEC, D.; GUL, O.; YAZICI, F.; ATMACA, E. Levels of organochlorine pesticide residues in butter samples collected from the Black Sea Region of Turkey. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 90: 110-115. 2013.
- [4] ALVARADO, I.; PÉREZ, C. El uso de biocidas: un problema ambiental. **Intercien.** 23 (1): 20-25. 1998.
- [5] ASSOCIATION OF OFFICIAL CHEMICAL ANALISTS (AOAC). Official Methods of Analysis. 16th Ed. Pesticide and Industrial Chemical Residues. Method 970.52: Organochlorine and organophosphorus Pesticide Residues. Pp. 6 – 7. 1997.
- [6] BRUNETTO, R.; LEÓN, A.; BURGUERA, J.; BURGUERA, M. Levels of DDT residues in human milk of Venezuelan women from various rural populations. **Sci. Tot. Environ.** 186: 203-207. 1996.
- [7] BULUT, S.; AKKAYA, L.; GOK, V.; KONUK, M. Organochlorine pesticide residues in butter and kaymak in Afyonkarahisar, Turkey. **J. Anim. Vet. Adv.** 9 (22): 2797-2801. 2010.
- [8] CÁMARA VENEZOLANA DE INDUSTRIAS LÁCTEAS (CAVILAC). La industria lechera en Venezuela. Su evolución. 13 Ed. 26 pp. 2008.
- [9] COLINA, G.; BARRIOS, O. Investigación sobre plaguicidas en leche pasteurizada por cromatografía gas líquido (GLC). Fac. Ingeniería. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela. Trabajo Especial de Grado. 74 pp. 1979.
- [10] COSTABEBER, I.; EMANUELLI, T. Influencia de hábitos alimentarios sobre las concentraciones de pesticidas organoclorados en tejido adiposo. **Cien. Tecnol. Aliment.** 22 (1): 54-59. 2002.
- [11] FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATION, WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO/FAO). Maximum residue limits for pesticides and veterinary drugs. Rome. 2006. On Line: <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/pestici/JMPR/DOWNLOAD/bilt-hove2005.pdf>. 3/18/2007.
- [12] GIL, M. Fundación Aguaclara. Proyecto Internacional de eliminación de los COP. Informe Ciudadano de la Situación de los Contaminantes Orgánicos Persistentes en Venezuela. L+N XXI Diseños, C.A. Impreso en Venezuela. 44 pp. 2006.
- [13] GILL, J.; SHARMA, J.; AULAK, R. Studies on organochlorine pesticide residues in butter in Punjab. **Toxicol. Int.** 16 (2): 133-136. 2009.
- [14] ISEA, G.; HUERTA, L.; RODRÍGUEZ, I. Desarrollo histórico de la legislación sobre plaguicidas organoclorados en Venezuela. **Rev. Cien. Salud. Bogotá (Colombia).** 7(1): 47-64. 2009.
- [15] IZQUIERDO, P.; ALLARA, M.; TORRES, G.; WOO, C.; CHURIO, O.; RODRÍGUEZ, B. Determinación de plaguicidas organoclorados en leche cruda producida en el Estado Zulia. LII Convención Anual AsoVAC. **Acta Científ. Venez.** 53 (Sup. 1): 17. 2002.
- [16] IZQUIERDO, P.; BOSCÁN, Y.; GONZÁLEZ, P.; MOLE-RO, L.; ALLARA, M.; TORRES, G. Plaguicidas organoclorados en quesos. LIII Convención Anual AsoVAC. **Acta Científ. Venez.** 54 (Sup. 1): 260. 2003.
- [17] IZQUIERDO, P.; ALLARA, M.; TORRES, G.; GARCÍA, A.; PIÑERO, M. Residuos de plaguicidas organoclorados en fórmulas infantiles. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XIV (2): 147-152. 2004.
- [18] KALANTZI, O.; ALCOCK, R.; JOHNSTON, P.; SANTILLO, D.; STRINGER, R.; THOMAS, G.; JONES, K. The global distribution of PCBs and organochlorine pesticides in butter. **Environ. Sci. Technol.** 35 (6): 1013-1018. 2001.
- [19] KAPOOR, S.; KALRA, R. Comparative excretion of DDT analogues into milk of Indian Buffalo, *Bubalis bubalis* L. following oral administration. **Pest. Sci.** 37 (3): 261-266. 1993.
- [20] KAUSHIK, G.; SATYA, S.; NAIK, S. Food processing a tool to pesticide residue dissipation- A review. **Food Res. Int.** 42: 26-40. 2009.
- [21] KOSTYNIK, P.; STINSON, C.; GREIZERSTEIN, H.; VENA, J.; BUCK, G.; MENDOLA, P. Relation of Lake Ontario fish consumption, lifetime lactation, and parity to breast milk polychlorobiphenyl and pesticide concentrations. **Environ. Res.** 80: S166 – S174. 1999.
- [22] LENARDÓN, A.; MAITRE, M.; ENRIQUE, S. Organochlorine pesticides in Argentinian butter. **Sci. Tot. Environ.** 144 (1-3): 273-277. 1994.
- [23] MEDINA, C.; ALLARA, M.; IZQUIERDO, P.; SÁNCHEZ, E.; PIÑERO, M.; TORRES, G. Residuos de insecticidas organoclorados en yogurt firme de tres marcas comerciales, elaborado en Venezuela. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XX (2): 203-211. 2010.

- [24] MONTGOMERY, D. Experimentos con un solo factor: Análisis de Variancia. **Diseño y análisis de experimentos**. Grupo editorial Iberoamérica. México, D.F. 589 pp. 1991.
- [25] NAVA, E.; PEROZO, A. Determinación de niveles de residuos de insecticidas organoclorados en derivados lácteos (mantequilla y queso) mediante cromatografía gas-líquida. Universidad del Zulia. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química. Trabajo Especial de Grado. Maracaibo, Venezuela. 118 pp. 1979.
- [26] PIERRE, F.; BETANCOURT, P. Residuos de plaguicidas organoclorados y organofosforados en el cultivo de cebolla de la depresión de Quíbor, Venezuela. **Bioagro**. 19(2): 69-78. 2007.
- [27] PORTER, J. Leche agria y leche fermentada. **Leche y Productos Lácteos**. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 88 pp. 1981.
- [28] REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA. Gaceta Oficial N° 28673. Año XCVI. Mes IX, Caracas, Venezuela. Julio 1978.
- [29] REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA, Ministerio del Poder Popular para el Ambiente. Informe sobre contaminantes orgánicos persistentes. Evaluación de los COP incluidos en el Anexo A, parte I de la Convención (DDT). Venezuela. El Ministerio. Pp 106. 2006.
- [30] RUIZ, E. Determinación de residuos de insecticidas organoclorados en mantequillas y margarinas de consumo en Venezuela. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Instituto de Química y Tecnología. Maracay. Trabajo de Ascenso. 72 pp. 1980.
- [31] SALEM, N; AHMAD, R.; ESTAITIEH, H. Organochlorine pesticide residues in dairy products in Jordan. **Chemosph**. 77: 673-678. 2009.
- [32] SMITH, D. Worldwide trends in DDT levels in human breast milk. **Int. J. Epidem**. 28 (2): 179-188. 1999.
- [33] SNYDER, L.; KIRKLAND, J. Quantitative and trace analysis. **Introduction to Modern Liquid Chromatography**. 2nd Ed. Wiley – Interscience Publication. United States of America. 661 pp. 1979.
- [34] SORONDO, A. Comparación del efecto del procesamiento de la leche cruda, leche pasteurizada y en polvo, en lo referente al contenido de insecticidas organoclorados. Universidad del Zulia. Facultad de Ingeniería. Maracaibo, Venezuela. Trabajo Especial de Grado. 43 pp. 1979.
- [35] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). Version 8. Cary, NC. USA. 1999.
- [36] TERÁN, M. Epidemiología y control de las intoxicaciones por plaguicidas en el Hospital Universitario de los Andes. 1975-1979. Universidad de los Andes. Facultad de Medicina. Departamento de Medicina Preventiva y Social. Mérida- Venezuela. 103 pp. 1982.
- [37] TORRES, D.; CAPOTE, T.; MATUTE, S. Evaluación de un método de extracción para la determinación de pesticidas organoclorados en sedimentos. **Rev. Fac. Agron**. (Maracay). 29: 161-169. 2003.
- [38] URIBE, A. Efecto de los procesos de elaboración de leche pasteurizada, queso y mantequilla, sobre los residuos de pesticidas organoclorados. Universidad Austral de Chile. Esc. de Ingeniería de Alimentos. Tesis de Grado. Chile. 130 pp. 1999.
- [39] WALISZEWSKI, S.; PARDÍO, V.; WALISZEWSKI, K.; CHANTIRI, J.; INFANZÓN, R. Levels of organochlorine pesticides in mexican butter. **J. AOAC Int**. 79 (3):784-786. 1996.
- [40] WALISZEWSKI, S.; PARDÍO, V.; WALISZEWSKI, K.; CHANTIRI, J.; AGUIRRE, A.; INFANZÓN, R.; RIVERA, J. Organochlorine pesticides residues in cow's milk and butter in Mexico. **Sci. Tot. Environ**. 208: 127-132. 1997.
- [41] WALISZEWSKI, S.; MÓJICA, X.; INFANZÓN, R.; BARRADAS, D.; CARVAJAL, O. Uso del ácido sulfúrico en las determinaciones de plaguicidas organoclorados. I. Calidad químico-analítica de la precipitación de grasas por el ácido sulfúrico concentrado en muestras con alto contenido de lípidos. **Rev. Int. Contam. Ambient**. 24(1): 33-38. 2008.
- [42] WONG, S.; LEE, W. Survey of organochlorine pesticide residues in milk in Hong Kong. **J. AOAC Int**. 80 (6): 1332-1339. 1997.