

RESIDUOS DE INSECTICIDAS ORGANOCOLORADOS EN YOGURT FIRME DE TRES MARCAS COMERCIALES, ELABORADO EN VENEZUELA

Organochlorine Insecticide Residues in Yogurt of Three Commercial Brands, Made in Venezuela

Carlos Medina^{1,3}, María Allara¹, Pedro Izquierdo¹, Egar Sánchez², María Y. Piñero¹ y Gabriel Torres¹

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

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

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de residuos de insecticidas organoclorados (IOC) en yogurt de tres marcas comerciales y distintos tiempos de almacenamiento, utilizando la técnica de extracción líquido-líquido recomendada por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, 1997). Se seleccionaron 3 marcas comerciales de yogurt natural firme, elaboradas en Venezuela y distribuidas en el estado Zulia, denominadas A, B y C, y 3 tiempos de almacenamiento (0; 15 y 30 días previos a la fecha de vencimiento), a una temperatura de 4°C, obteniéndose un total 54 muestras. De las muestras analizadas, 48 (88,9%) presentaron residuos de IOC. En las 3 marcas se encontró en mayor concentración endosulfán, con valores de 0,1137 mg kg⁻¹ de grasa para la marca A; 0,1105 mg kg⁻¹ de grasa para la marca B y 0,1927 mg kg⁻¹ de grasa para la marca C, mientras que en menor concentración se detectó aldrín (0,0037 mg kg⁻¹ de grasa para la marca A), endrín (0,0076 mg kg⁻¹ de grasa para la marca B) y lindano (0,0045 mg kg⁻¹ de grasa para la marca C). No se detectaron endrín y mirex para la marca A; aldrín, metoxicloro y mirex para la marca B y endrín, DDT y mirex para la marca C. En algunas de las muestras, la concentración de los IOC excedió los límites máximos de residuos (LMRs); con excepción de hexaclorobenceno para las 3 marcas; heptacloro, aldrín, diendrín y DDT para la marca A; p,p'-DDE para la marca B y lindano para la marca C. No se encontraron diferencias significativas en la concentración de IOC por efecto del tiempo de almacenamiento a 4°C. No se produjo una disminución de la concentración de IOC durante el almacenamiento. Se recomienda el monitoreo de residuos de IOC en los alimentos producidos en Venezuela.

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

ABSTRACT

The objective of this research was to determine organochlorine insecticide (OCI) residues in different yogurt commercial brands during storage time, by mean of liquid-liquid extraction technique, recommended by the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1997). Three commercial brands of natural, firm yogurt, elaborated in Venezuela and distributed in Zulia State were selected, called A, B and C, and three storage times (0, 15 and 30 days previous to date of expiry), at a temperature of 4°C were tested, for a total of 54 samples. Of the total number of samples, 48 (88.9%) had OCI residues. The residue which was found in higher concentration was endosulfan, with values of 0.1137 mg kg⁻¹ of fat for brand A, 0.1105 mg kg⁻¹ of fat for brand B and 0.1927 mg kg⁻¹ of fat for brand C. The residues detected in lower concentration were aldrin (0.0037 mg kg⁻¹ of fat for brand A), endrin (0.0076 mg kg⁻¹ of fat for brand B) and lindane (0.0045 mg kg⁻¹ of fat for brand C). Not detected OCI residues were endrin and mirex for brand A; aldrin, metoxyclo and mirex for brand B and endrin, DDT and mirex for brand C. In some samples, concentration of OCI residues exceeded maximum residue limits (MRL), except hexachlorobenzene for all brands, heptachlor, aldrin, diendrin and DDT for brand A; p,p-DDE for brand B and lindane for brand C. No significant differences were found in the concentration of OCI residues due to the effect of storage time at 4°C. There was no reduction of OCI residues concentration during storage. Monitoring of organochlorine pesticide residues in foods produced on Venezuela is recommended.

Key words: Organochlorine insecticides, yogurt, gas chromatography.

INTRODUCCIÓN

Los insecticidas organoclorados (IOC) se han utilizado con la finalidad de controlar los insectos que afectan la actividad agrícola, pecuaria y para controlar vectores de enfermedades [10]. Su uso en Venezuela se inició a partir de 1944, para el control de la malaria [28, 36], y en las décadas de los 60 y 70 se aplicaron con fines agrícolas bajo el impulso de la Reforma Agraria [14, 42]. Luego de demostrarse la persistencia de los IOC en el medio ambiente, su acumulación en los seres vivos y otros posibles efectos nocivos a largo plazo, el gobierno venezolano prohibió su aplicación en productos agrícolas de consumo directo [35]. Sin embargo, entre 1972 y 1981, se utilizaron en el país en la actividad agrícola [6, 41] y se acumuló una gran cantidad de desechos orgánicos tóxicos (endrín, aldrín, DDT, toxafeno, entre otros) almacenados de manera inadecuada [14, 36]. Actualmente, se permite, con autorización previa, la utilización del DDT para confrontar la malaria, por parte del Ministerio de Salud [14].

Como consecuencia del uso de IOC en el país, y debido a las propiedades químicas de estos compuestos, es posible la persistencia de sus residuos en los ecosistemas venezolanos y la incorporación de los mismos en los alimentos a través de la cadena alimentaria, principalmente en alimentos con un elevado contenido de grasa. El consumo de alimentos contaminados con residuos de IOC puede causar efectos tóxicos para la salud, debido a la capacidad estrogénica y a los efectos carcinogénicos, inmunodepresores, hepatotóxicos y mutagénicos que caracterizan a estos compuestos químicos [12, 13, 20, 22, 23, 26, 29, 30, 43].

Entre los alimentos derivados de la leche, existe un creciente interés por el consumo del yogurt como un producto beneficioso para la salud. El yogurt es un producto lácteo fermentado que, debido al desarrollo de dos microorganismos (*Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*), ha adquirido un característico sabor ácido y tiene una fina y suave textura, que va, desde un firme gel hasta un líquido viscoso como las natillas, dependiendo de la técnica de fabricación. Se puede obtener a partir de la leche de todas las especies y aunque las más comunes son la vaca (*Bos taurus - indicus*), la cabra (*Capra hircus*) y la oveja (*Ovis aries*), también se han utilizado las leches de camella (*Camelus dromedarius*) y búfala (*Bubalus bubalis*) [32].

La lactosa es el carbohidrato predominante del yogurt, con un 4-5%; la lactosa presente en el yogurt no provoca reacción de intolerancia, debido a que los cultivos iniciadores continúan metabolizándola, por lo que la cantidad de lactosa libre que llega al intestino es baja como para causar una reacción adversa. Presenta un contenido de lípidos de 3-4%, que son parte integrante de una dieta equilibrada y 3,9% de proteínas

de elevado valor biológico, con una elevada digestibilidad causada por la proteólisis que realizan los cultivos iniciadores, y con las proteínas lácteas coaguladas que favorecen la digestión [41].

El yogurt no sólo es una fuente importante de calcio para las personas que padecen intolerancia a la lactosa, sino que aporta calcio más fácilmente asimilable y utilizable que el presente en otros productos [41]. Además de su alto valor nutritivo, el consumo del yogurt ofrece otras ventajas para el hombre, porque los cultivos iniciadores son capaces de prevenir la adherencia, establecimiento, replicación y/o acción patogénica de enteropatógenos específicos como *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, entre otros [27].

Para el año 2004, la producción de leche en Venezuela fue de 1.007,6 millones de litros, de los cuales el 23% se destinó a la producción de leche líquida pasteurizada, 14% leche en polvo, 35% queso nacional industrial, 23% queso artesanal, autoconsumo y otros usos, y leche UHT 5% [7]. El consumo de yogurt en Venezuela es de 40 millones de kg al año, con un consumo per capita bajo, si se compara con otras naciones: para el año 2005, cada venezolano consumía 1,7 Kg. al año, mientras que en Colombia este índice se eleva a 4 kg. y en Estados Unidos y Europa oscila entre 8 y 10 kg al año por persona (Producto On Line). www.producto.com.ve/272/notas/occidente/occidente16.html.

De las diferentes etapas de procesamiento del yogurt, el tratamiento térmico y la inoculación con cultivos iniciadores parecen ser las más importantes en la reducción de la concentración de los IOC que pudieran estar presentes en la materia prima. La pasteurización de la leche a 72°C causa una reducción de 63,6% de lindano, que puede ser atribuida a la absorción del lindano por la proteína de la leche [1].

Algunas investigaciones han estudiado la capacidad que tienen los microorganismos, particularmente los coliformes y otras bacterias Gram negativas, de degradar los IOC, como aldrín, DDT y lindano. Estos microorganismos degradan el aldrín a dieldrin, el cual es un compuesto más tóxico que su precursor, el DDT puede degradarse a DDD o a ácido diclorodifenolacético (DDA) por decoloración reductiva y transformarse a diclorodifeniletano (DDE) por deshidrodecoloración, mientras que el lindano es transformado a pentaclorociclohexano [18]. La especie *Pseudomonas putida*, es capaz de transformar γ -hexaclorociclohexano (HCH) en α -HCH. Por otra parte, *Clostridium* spp y *Bacillus* spp pueden degradar los isómeros de HCH en metabolitos volátiles; también se ha reportado la degradación de lindano a γ -TeCCH por *Clostridium rectum* y *Pseudomonas putida* [17].

En cuanto a las bacterias Gram positivas, Abou-Arab [1] reportó que las bacterias *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, que constituyen los cultivos iniciadores del yogurt, tienen capacidad de degradar lindano durante el almacenamiento en refri-

geración. Según el mismo autor se produce una reducción de 30,2% del lindano total durante el almacenamiento por 6 meses a 12°C, de queso elaborado con leche contaminada con lindano, debido al efecto de microorganismos responsables del proceso de maduración del queso.

Entre los estudios realizados en otros países para la detección de IOC en yogurt, Darko y Acquaah [9] en una investigación que involucró 3 comunidades de Ghana, Ayeduasi, Knust y K-Poly (n=20 de cada zona) detectaron DDT y DDE en el 100% de las muestras de yogurt analizadas, que se encontraron en mayor concentración en la comunidad de Ayeduasi. La concentración de endosulfán varió entre 0,05 – 0,06 µg kg⁻¹. Lindano fue detectado en el 10% de las muestras de Knust y el 30% de las muestras de K-Poly. La concentración de todos los residuos detectados estuvo por debajo de los límites máximos de residuos (LMRs). Abou-Arab [1] analizó residuos de lindano y sus metabolitos en 25 muestras de yogurt de diferentes regiones del Gran Cairo, detectando la presencia de lindano en 7 (28%) de las muestras. La concentración de lindano varió entre 0,001-0,014 mg kg⁻¹ de grasa, en una muestra se excedieron los LMRs.

En Venezuela se han realizado estudios sobre la presencia de residuos de IOC en leche cruda, pasteurizada y en polvo [8, 15, 39], queso [4], mantequilla [28, 37], aceites vegetales [2, 31] y fórmulas infantiles [5, 16], en algunos casos en concentraciones que exceden los LMRs establecidos por la Organización para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (FAO/WHO) [11]. Sin embargo, no se han reportado estudios sobre residuos de IOC en yogurt. A pesar de ello y debido a su importancia, en este trabajo se evaluó la presencia y concentración de residuos de IOC de 3 marcas comerciales de yogurt elaboradas en el país, durante 3 tiempos de almacenamiento a 4°C: fecha de elaboración (día 0), vida media del producto (día 15) y fecha de vencimiento (día 30).

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Se analizaron muestras de yogurt natural firme con un contenido de grasa de 3%, de 3 marcas comerciales de elevado consumo, elaboradas en Venezuela y comercializadas en supermercados de la ciudad de Maracaibo, Edo. Zulia, las mismas se denominaron A, B y C. En cada muestreo se adquirieron 3 yogurt de cada marca, los cuales tenían en el momento de su compra una fecha de vencimiento de 1 mes, contado a partir de ese día, según especificaciones de los fabricantes en la etiqueta. Una vez comprados, se trasladaron al laboratorio y se refrigeraron en una cava Tropicold Modelo V54P, Neve Industrial CA (Venezuela) a una temperatura de 4°C, durante 30 días. Se realizaron 6 muestreos, entre mayo y octubre de 2007, con un intervalo de 6 semanas por cada 2 muestreos, para un total de 54 muestras analizadas.

Los días 0; 15 y 30 del almacenamiento, se retiró 1 yogurt de cada marca comercial y fue sometido al análisis de IOC, empleando el método oficial 970.52 de extracción líquido-líquido propuesto por la AOAC [3], que comprende las etapas de obtención 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, con 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, con una microjeringa Hamilton de 10 µL de capacidad. La temperatura inicial del horno marca Shimadzu®, modelo GC-14B (Japón), fue de 200°C durante los primeros 5 min. y se elevó linealmente hasta 275°C a razón de 8°C/min., la temperatura final se mantuvo por 2 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 [15]. 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 en las muestras analizadas, 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'-DDE 99,1%, metoxyclor 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).

Para ello, 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; 0,75; 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 detectados en las muestras analizadas se realizó utilizando el método del estándar externo [38], 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:

$$C_m = \frac{(A_m \times C_{st} \times \text{Factor derivado de \% Recuperación})}{A_{st} \times \text{gramos de grasa}}$$

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 de% Recuperación = $100 / \% \text{ Recuperación}$

A_{st} = Área del estándar

Sensibilidad

Se realizaron análisis cromatográficos de muestras a las que se adicionaron concentraciones de IOC entre 1 y $0,003 \text{ mg kg}^{-1}$ de grasa; se consideró como límite de detección 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 3 veces mayor que la línea base.

Porcentaje de recuperación

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

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados como un diseño anidado [24] en dos etapas con el factor tiempo anidado dentro del factor yogurt, utilizando el software SAS versión 8,0 [40] y considerando ambos factores fijos.

Modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_{j(i)} + \varepsilon_{ij(k)}$$

donde:

Y_{ijk} = concentración de IOC asociado a la i -ésima marca, al j -ésimo tiempo de almacenamiento y a la k -ésima replicación.

μ = media general de las concentraciones de IOC.

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

$\beta_{j(i)}$ = efecto de la j -ésimo tiempo de almacenamiento anidado dentro de la i -ésima marca de yogurt. $j = 1, 2, 3$

$\varepsilon_{ij(k)}$ = error aleatorio asociado a la i -ésima marca, al j -ésimo tiempo de almacenamiento y a la k -ésima replicación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros cromatográficos

En la TABLA I se presentan los resultados obtenidos de los parámetros cromatográficos del método: tiempo de retención, correlación lineal, porcentaje de recuperación y límite de detección. Darko y Acquaah [9], utilizando el método de extracción recomendado por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de Norteamérica, reportaron los siguientes porcentajes de recuperación: lindano 68%, aldrín 72%, endosulfán 74%, p,p'-DDE 91%, dieldrín 72% y p,p'-DDT 95%, con límites de detección de $0,0005 \text{ mg kg}^{-1}$ de grasa para lindano, $0,00012 \text{ mg kg}^{-1}$ de grasa para aldrín, $0,00023 \text{ mg kg}^{-1}$ de grasa para endosulfán, $0,00030 \text{ mg kg}^{-1}$ de grasa para p,p'-DDE, $0,00005 \text{ mg kg}^{-1}$ de grasa para dieldrín, y $0,00004 \text{ mg kg}^{-1}$ de grasa para p,p'-DDT, estos límites de detección fueron inferiores a los obtenidos en el presente estudio.

Un porcentaje elevado de las muestras analizadas presentó residuos de IOC, 48 de 54 (88,9%), contenían residuos; específicamente se detectó 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 2 o más residuos de IOC (FIG. 1).

En la TABLA II se presentan los valores promedio de las concentraciones de residuos de IOC, expresados en mg kg^{-1} de grasa para hexaclorobenceno, lindano, heptacloro, aldrín, endosulfán, p,p'-DDE, dieldrín, endrín, DDT, metoxicloro y mirex en los yogurt de las tres marcas de (A, B y C). La mayoría de los IOC mencionados, fueron encontrados en concentraciones detectables por el método empleado, con las excepciones de endrín y mirex para la marca A; aldrín, metoxicloro y mirex para la marca B y endrín, DDT y mirex para la marca C, que no fueron detectados.

El residuo de IOC que se cuantificó con mayor concentración en las tres marcas comerciales de yogurt fue endosulfán, con valores de $0,1137 \text{ mg kg}^{-1}$ de grasa para la marca A; $0,1105 \text{ mg kg}^{-1}$ de grasa para la marca B y $0,1927 \text{ mg kg}^{-1}$ de grasa para la marca C; mientras que en menor concentración se detectó aldrín con concentración de $0,0037 \text{ mg kg}^{-1}$ de grasa para la marca A; endrín con $0,0076 \text{ mg kg}^{-1}$ de grasa para la marca B y lindano con $0,0045 \text{ mg kg}^{-1}$ de grasa para la marca C.

Las muestras analizadas presentaron altas concentraciones de endosulfán, residuo de IOC causante de disrupción endocrina; también se ha relacionado con el autismo, daños en el sistema reproductor masculino y malformaciones en el recién nacido [9]. Este IOC ha tenido un amplio uso a nivel mundial, calculándose en 10.000 toneladas métricas la producción mundial; aunque se ha prohibido en la Unión Europea la comercialización y la utilización del endosulfán, se sigue produciendo en algunos países y se continúa usando. Debido a los riesgos causados por el endosulfán, la FAO recomendó su inclusión en el 2007 en la lista de sustancias bajo vigilancia para evitar daños a

TABLA I
PARAMETROS CROMATOGRÁFICOS DEL MÉTODO/CHROMATOGRAPHIC METHOD PARAMETERS

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

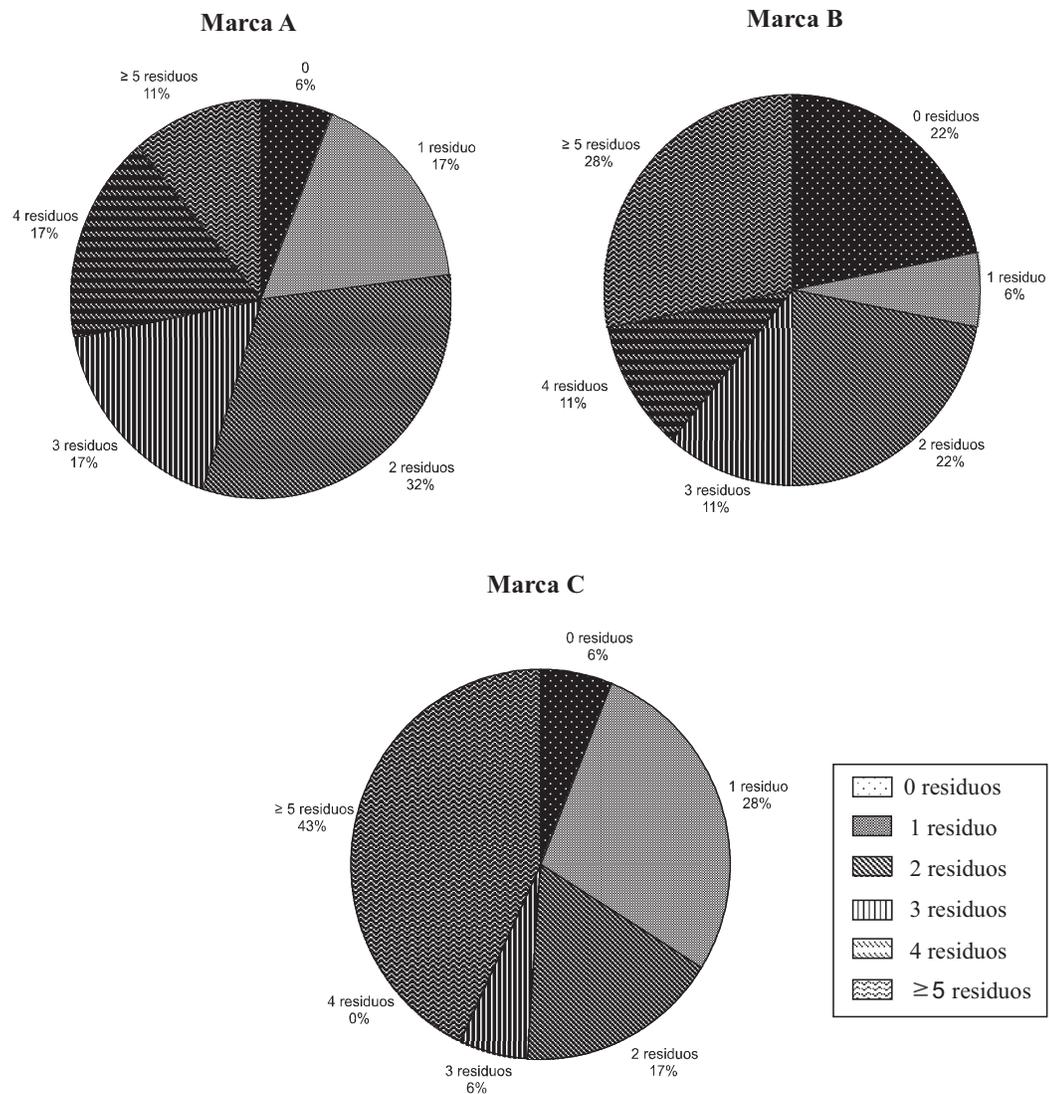


FIGURA 1. FRECUENCIA DE RESIDUOS DE IOC DE LA MARCAS A, B y C/ OCI RESIDUES FREQUENCY IN A, B AND C BRANDS.

TABLA II
**CONCENTRACIONES PROMEDIO (mg kg⁻¹ de grasa) DE RESIDUOS DE IOC POR MARCAS ANALIZADAS/
 AVERAGE CONCENTRATIONS FOR OCI (mg kg⁻¹ of fat) IN ANALYZED BRANDS**

IOC	Marca A	Marca B	Marca C	LMRs ¹
Hexaclorobenceno	0,0239 ^a	0,0157 ^a	0,0133 ^a	0,1
Lindano	0,0115 ^a	0,0102 ^a	0,0045 ^a	0,01
Heptacoloro	0,0046 ^a	0,0092 ^a	0,0145 ^a	0,006
Aldrín	0,0037 ^a	ND	0,0071 ^a	0,006
Endosulfán	0,1137 ^a	0,1105 ^a	0,1927 ^a	0,01
p,p'-DDE	0,0415 ^a	0,0080 ^a	0,0229 ^a	0,02
Dieldrín	0,0055 ^a	0,0079 ^a	0,0335 ^b	0,006
Endrín	ND	0,0076	ND	0,0008
DDT	0,0095 ^a	0,0206 ^a	ND	0,02
Metoxiclor	0,0247 ^a	ND	0,0417 ^a	—
Mirex	ND	ND	ND	—

Superíndices diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$). ¹LMRs = Límites máximos de residuos (mg kg⁻¹ de grasa) [11]. N= 54 muestras (18 por cada marca). ND= No detectado.

la salud o el medio ambiente producidos por este insecticida y otros compuestos químicos peligrosos [34].

La presencia de endosulfán en la leche está asociada con la contaminación del agua de la zona de pastoreo de las vacas, tal como lo refiere un estudio realizado en España por Martínez y col. [21] en aguas superficiales y subterráneas procedentes de pozos superficiales de las principales áreas agrícolas. En Venezuela, el endosulfán fue uno de los principales residuos detectados en aguas de abastecimiento en el estado Lara, contribuyendo de esta forma con la contaminación del ambiente y los productos comestibles dentro de ellos la leche y productos derivados [14].

Entre las marcas analizadas, no se detectaron diferencias significativas para la concentración de los 11 residuos de IOC estudiados, con la excepción de dieldrín para la marca C, cuya concentración superó significativamente ($P < 0,05$) la de las marcas A y B. Este resultado es similar al reportado por Darko y Acquah [9], en yogurt con una concentración de dieldrín de 0,14 mg kg⁻¹ de grasa.

Al comparar la concentración de los residuos de IOC con los LMRs establecidos por la FAO/WHO [11], los residuos que estuvieron por debajo de dichos límites fueron hexaclorobenceno para la marca A, B y C; heptacoloro, aldrín, dieldrín y DDT para la marca A; p,p'-DDE para la marca B y lindano para la marca C. El resto de las concentraciones detectadas excedieron los LMRs establecidos constituyendo un riesgo para la salud debido a los efectos carcinogénicos y mutagénicos de los IOC [22].

En las marcas A y C se detectó una mayor concentración de p,p'-DDE que de DDT, esto es indicativo de que en las regiones de donde proviene la leche o sólidos lácteos utilizados para la elaboración de yogurt de esas marcas comerciales, no

hay un uso reciente de DDT. A diferencia de la marca B, donde las concentraciones de DDT son mayores que las de su principal metabolito, p,p'-DDE, lo que es indicativo de un uso reciente de DDT en esa región. Darko y Acquah [9] también describen una variabilidad en la relación entre la concentración de p,p'-DDE y DDT de acuerdo al sitio de muestreo, en muestras de queso de 3 comunidades diferentes de Ghana señalan diferencias que atribuyen los autores al uso pasado y presente del DDT en los sitios de muestreo.

La concentración de DDT excedió los LMRs para la marca B. Aunque la venta de DDT para uso agrícola está prohibida en Venezuela, este compuesto químico todavía se moviliza en pequeñas concentraciones a través de la cadena alimentaria debido a su persistencia en el suelo por años [31], tal como ha sido referido en estudios realizados en la India por Mukherjee y Gopal [25], para muestras de leche y productos lácteos, así como en otro estudio realizado por Prado y col. [33] en leche pasteurizada de Ciudad de México.

Al comparar el presente estudio con otros realizados en el estado Zulia con el mismo propósito en fórmulas infantiles [16], se observa que los siguientes IOC exceden los LMRs: lindano, dieldrín, aldrín, heptacoloro y endrín. En este estudio los mismos IOC sobrepasaron los LMRs, y a diferencia de este, DDT también sobrepasó los LMRs para una marca comercial de yogurt.

Efecto del almacenamiento

En la TABLA III se muestran los valores medios, expresados en mg kg⁻¹ de grasa, de los residuos de hexaclorobenceno, lindano, heptacoloro, aldrín, endosulfán, p,p'-DDE, dieldrín, endrín, DDT, metoxicloro y mirex para las tres marcas comerciales de yogurt (A, B y C) y los tres tiempos de almace-

TABLA III
CONCENTRACIONES PROMEDIO DE IOC (mg kg⁻¹ de grasa) POR MARCAS DE YOGURT Y POR TIEMPOS DE ALMACENAMIENTO/ AVERAGE OCI CONCENTRATION (mg kg⁻¹ of fat) FOR YOGURT BRAND AND STORAGE TIME.

IOC	Tiempo de almacenamiento A 4°C								
	0 Días			15 Días			30 Días		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Hexaclorobenceno	0,0324	0,0331	0,0301	0,0282	0,0086	0,0060	0,0110	0,0055	0,0054
Lindano	0,0103	0,0284	0,0249	ND	ND	0,0092	ND	ND	ND
Heptacloro	0,0249	0,0119	0,0217	0,0034	0,0035	0,0184	ND	0,0124	0,0034
Aldrín	0,0071	ND	0,0331	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Endosulfán	0,1841	0,1886	0,2778	ND	0,1373	0,1788	0,0748	ND	0,1216
p,p'-DDE	0,0561	0,0213	0,0305	0,0548	ND	0,0299	0,0136	ND	0,0086
Dieldrín	0,0113	0,0149	0,0394	0,0036	0,0064	0,0311	ND	ND	0,0299
Endrín	0,0049	0,0205	0,0051	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DDT	0,0231	0,0502	0,0106	ND	0,0137	ND	ND	ND	ND
Metoxiclor	0,0537	ND	0,0671	0,0204	ND	0,0340	ND	ND	0,0241
Mirex	0,0078	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

N= 54 muestras (18 por cada marca). ND= No Detectado. Marcas de yogurt A; B y C.

miento estudiados (0; 15 y 30 días). Dentro de cada marca no se detectaron diferencias significativas en la concentración de IOC por efecto del tiempo de almacenamiento.

Los resultados del presente estudio difieren de los obtenidos por Abou-Arab [1] en yogurt procedente de diferentes regiones del Gran Cairo, en los mismos reporta una reducción significativa de la concentración de lindano durante 3 días de almacenamiento en refrigeración (el autor no especifica la temperatura del refrigerador), de 2,0% el primer día, 3,6% el segundo día y 8,6% el tercer día, con concentraciones de lindano de 0,986 mg kg⁻¹ de grasa en el yogurt fresco; 0,980 mg kg⁻¹ de grasa el primer día; 0,964 mg kg⁻¹ de grasa el segundo día y 0,914 mg kg⁻¹ de grasa el tercer día. Esta reducción pudo deberse al efecto de los microorganismos que degradan estos residuos durante el almacenamiento, lo cual no se evidenció en el presente estudio.

Resultados similares al presente estudio fueron descritos por Kim y Harmon [18], quienes no encontraron pruebas perceptibles de degradación o alteración química de aldrín, DDT o lindano por los organismos o cultivos lácticos *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* subsp. *diacetylactis* y *Lactobacillus casei*, incubados a 32°C durante 14 días en leche contaminada con concentraciones de 1 mg kg⁻¹ de IOC. Estos autores señalan que los estudios de degradación en medios sintéticos han arrojado una degradación de los IOC, pero una vez que se hacen estudios en leche esta degradación no ocurre, por lo que la leche tendría un efecto protector de los IOC ante la acción bacteriana. Al respecto, Langlois y col. [19] señalaron que no se espera que ocurra la degradación de DDT en leche, debido a que la caseína parece formar un complejo con el DDT, impidiendo su degradación.

Kim y Harmon [18] señalaron que, debido a la solubilidad en grasa de los IOC, estos son más propensos a ser degradados por bacterias Gram negativas que contienen aproximadamente un 20% de grasas, que por las bacterias Gram positivas que contienen un máximo de grasas de 2%.

CONCLUSIONES

Las muestras analizadas de 3 marcas comerciales de yogurt, elaboradas en Venezuela, presentaron altas concentraciones de residuos de IOC, excediendo los LMRs, con excepción de hexaclorobenceno para las marcas A, B y C; heptacloro, aldrín, dieldrín y DDT para la marca A; p,p'-DDE para la marca B y lindano para la marca C.

No se observó una disminución de la concentración de residuos de IOC en los productos estudiados, durante el almacenamiento a 4°C.

No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de residuos de IOC en las diferentes marcas comerciales evaluadas durante el almacenamiento a 4°C.

RECOMENDACIONES

- Realizar un continuo monitoreo para la detección de residuos de IOC en leche y productos lácteos que se distribuyen en Venezuela.
- Mejorar y crear normas venezolanas a fin de establecer LMRs de IOC en alimentos.
- Incrementar la vigilancia por parte de los organismos gubernamentales para evitar que se usen los IOC prohibidos en Gaceta Oficial.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) por el financiamiento del Proyecto CC-0809-07.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABOU-ARAB, A. Effects of processing and storage of dairy products on lindane residues and metabolites. **Food Chem.** 64 (4): 467-473. 1999.
- [2] AGUILAR, J. Análisis de pesticidas organoclorados en aceites comestibles por Cromatografía Gas Líquida. Universidad del Zulia. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química. Venezuela. Trabajo Especial de Grado. 42 pp. 1984.
- [3] ASSOCIATION OF OFFICIAL CHEMICAL ANALYSTS (AOAC). Official Methods of Analysis. 16th Ed. Chapter 10. **Pesticide and Industrial Chemical Residues.** Method 970.52: Organochlorine and organophosphorus Pesticide Residue. 6-7 pp. 1997.
- [4] BOSCÁN, Y.; GONZÁLEZ, P.; MOLERO, L. Insecticidas organoclorados en queso. Facultad de Medicina. Escuela de Bioanálisis. Universidad del Zulia. Venezuela. Trabajo de Grado. 37 pp. 2003.
- [5] BRACHO, G. Contenido de Insecticidas Organoclorados en leches para la alimentación infantil. Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. Venezuela. Trabajo de Ascenso. 32 pp. 1979.
- [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. Environm.** 186 (3): 203-207. 1996.
- [7] CÁMARA VENEZOLANA DE INDUSTRIAS LÁCTEAS (CAVILAC). La Industria Lechera en Venezuela. Su evolución, Año 2004. 30 pp. 2004.
- [8] COLINA, G.; BARRIOS, O. Investigación sobre insecticidas en leche pasteurizada por cromatografía gas líquido (GLC). Fac. Ingeniería. Universidad del Zulia. Venezuela. Trabajo Especial de Grado. 74 pp. 1979.
- [9] DARKO, G.; ACQUAAH, S. Levels of organochlorine pesticides residues in dairy products in Kumasi, Ghana. **Chemosph.** 71 (2): 294-298. 2007.
- [10] 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/pesticid/JMPR/DOWNLOAD/bilthove2005.pdf> .18 de marzo de 2007.
- [11] FERNÍCOLA, N. Toxicología de los insecticidas organoclorados. **Bol. Ofic. San. Panam.** 98 (1): 10-18. 1985.
- [12] HARDMAN, J.; LIMBIRD, L.; MOLINOFF, P.; RUDDON, R. Nonmetallic environmental toxicants. **The Pharmacological Basis of Therapeutics.** 9th Ed. Mc Graw-Hill. 1905 pp. 1996.
- [13] HUNTER, D.; HANKINSON, S.; LADEN, F.; COLDITZ, G.; MANSON, J.; WILLETT, W.; SPEIZER, F.; WOLFF, M. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer. **New Eng. J. Med.** 337 (18): 1253-1258. 1997.
- [14] 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.
- [15] IZQUIERDO, P.; ALLARA, M.; TORRES, G.; WOO, C.; CHURIO, O.; RODRÍGUEZ, B. Insecticidas organoclorados en leche cruda producida en el estado Zulia. **LII Convención Anual de AsoVAC.** Barquisimeto, 17 al 22 de noviembre, Venezuela. 53 (Sup. 1): 17. 2002.
- [16] IZQUIERDO, P.; ALLARA, M.; TORRES, G.; GARCÍA, A.; PIÑERO, M. Residuos de insecticidas organoclorados en fórmulas infantiles. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XIV (2): 147-152. 2004.
- [17] JOHRI, A.; DUA, M.; SINGH, A.; SETHUNATHAN, N.; LEGGE, R. Characterization and Regulation of Catabolic Genes. **Crit. Rev. Microbiol.** 25 (4):245-273. 1999.
- [18] KIM, J.; HARMON, L. Relationship between some chlorinated hydrocarbon Insecticides and lactic culture organisms in milk. **J. Dairy Sci.** 53 (2): 155- 160. 1970.
- [19] LANGLOIS, B.; COLLINS, J.; SIDES, K. Some factors affecting degradation of organochlorine pesticides by bacteria. **J. Dairy Sci.** 53 (12): 1671-1675. 1970.
- [20] LONGNECKER, M.; LEADOFF, M.; ZHOU, H.; BROCK, J. Association between maternal serum concentration of the DDT metabolite DDE and preterm and small-for-gestational-age babies at birth. **Lancet** 358 (9276): 110-114. 2001.
- [21] MARTÍNEZ, J.; BELMONTE, A.; GONZÁLEZ, M.; GARRIDO, A. Estudio de la contaminación por pesticidas en aguas ambientales de la provincia de Almería. **Eco-sist.** 13 (3): 30-38. 2004.
- [22] MATSUMURA, F. Classification of Insecticides. **Toxicology of insecticides.** Plenum Press. New York and London. 503 pp. 1985.
- [23] MINH, N.; SOMEYA, M.; MINH, T.; KUNISUE, T.; IWATA, H.; WATANABE, M.; TANABE, S.; VIET, P.; TUYEN, B. Persistent organochlorine residues in human breast milk from Hanoi and Hochiminh city, Vietnam: contamination,

- accumulation kinetics and risk assessment for infants. **Environm. Poll.** 129 (3): 431-441. 2004.
- [24] MONTGOMERY, D. Diseños Jerárquicos (o anidados). **Diseño y análisis de experimentos**. Grupo Editorial Iberoamérica. México. D.F. 394-396 pp. 1991.
- [25] MUKHERJEE, I.; GOPAL, M. Organochlorine pesticide residues in dairy milk in and around Delhi. **J. AOAC Int.** 76(2): 283-286. 1993.
- [26] NAGAYAMA, J.; KOHNO, H.; KUNISUE, T.; KATAOKA, K.; SHIMOMURA, H.; TANABE, S.; KONISHI, S. Concentrations of organochlorine pollutants in mothers who gave birth to neonates with congenital hypothyroidism. **Chemosph.** 68 (5): 972-976. 2007.
- [27] NAIDU, A.; BIDLACK, W.; CLEMENS, R. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB) **Crit Rev. Food Sci. Nut.** 38 (1): 13-126. 1999.
- [28] 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. Maracaibo, Venezuela. Trabajo Especial de Grado. 118 pp. 1979.
- [29] OFFENBERG, J.; NAUMOVA, Y.; TURPIN, B.; EISENREICH, S.; MORANDI, M.; STOCK, T.; COLOME, S.; WINER, A.; SPEKTOR, D.; ZHANG, J.; WEISEL, C. Chlordanes in the indoor and outdoor air of three U.S. Cities. **Environm. Sci. Tech.** 38 (10): 2760-2768. 2004.
- [30] PERNILLE, A.; GRANDJEAN, P.; JØRGENSEN, T.; BROCK, J.; BØGGILD, H. 1998. Organochlorine exposure and risk of breast cancer. **Lancet** 352 (9143): 1816.
- [31] PIÑERO, M.; IZQUIERDO, P.; ALLARA, M.; GARCÍA, A. Residuos de insecticidas organoclorados en 4 tipos de aceites vegetales. **ALAN** 57(4): 397-401. 2007.
- [32] PORTER, J. Leche agria y leche fermentada. **Leche y productos lácteos**. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 88 pp. 1981.
- [33] PRADO, G.; DÍAZ, G.; VEGA, S.; GONZÁLEZ, M.; PÉREZ, N.; URBAN, G.; GUTIÉRREZ, R.; RAMÍREZ, A.; PINTO, M. Residuos de insecticidas organoclorados en leche pasteurizada en Ciudad de México. **Archiv. Med. Vet.** 30(1): 55-66. 1998.
- [34] PROGRAMA DE LAS NACIONES UNIDAS PARA EL MEDIO AMBIENTE. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. Nota de la Secretaría. Inclusión del producto químico endosulfán en el anexo III del Convenio de Rotterdam. Roma. 49 pp. 16 de octubre de 2007.
- [35] REPÚBLICA DE VENEZUELA. Gaceta Oficial. Nº 28673. Año XCVI. Mes IX. Caracas, Venezuela. Julio. 213 pp. 1978.
- [36] REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA, MINISTERIO DEL PODER POPULAR PARA EL AMBIENTE. Informe sobre contaminantes orgánicos persistentes. Cap. 6: Información sobre el conocimiento acerca de almacenes, identificación de sitios y desechos contaminados, cantidades estimadas, regulaciones y medidas de planeamiento. Venezuela. El Ministerio. 106 pp. 2006.
- [37] 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.
- [38] 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.
- [39] 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.
- [40] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). User's Guide. Versión 8. Cary, NC: USA. 1999.
- [41] TAMIME, A.; ROBINSON, R. Valor nutritivo del yogur. **Yogur. Ciencia y Tecnología**. Ed. Acribia. Zaragoza. España. Pp 317-325. 1991.
- [42] TERÁN, M. Epidemiología y control de las intoxicaciones por insecticidas en el Hospital Universitario de los Andes. 1975-1979. Universidad de los Andes. Facultad de Medicina. Departamento de Medicina Preventiva y Social. Mérida- Venezuela. Trabajo de Ascenso. 103 pp. 1982.
- [43] WONG, S.; LEE, W. Survey of organochlorine pesticide residues in milk in Hong Kong. **J. AOAC Int.** 80 (6): 1332-1339. 1997.