

M. BARQUERO*
M. A. CONSTENLA**

Summary

Organochlorine pesticide residues were found in 30 samples of human adipose tissues. These samples were taken during surgical cases in 12 Costa Rican hospitals. Pesticide identification and quantification were carried out by gas-liquid chromatography. The following mean values of pesticides were found: HCB 0.15 µg/g, Heptachlor epoxide 0.38 µg/g, α-Chlordane 0.01 µg/g, Dieldrin 0.16 µg/g, Endrin 0.01 µg/g, p,p'-DDE 45.85 µg/g, o,p'-DDT 0.70 µg/g, p,p'-DDD 0.63 µg/g, p,p'-DDT 12.08 µg/g. Due to low frequencies for α-HCH, γ-HCH, and Heptachlor it was not possible to obtain their mean values. γ-Chlordane, Aldrin and polychlorinated biphenyls were not found in high enough concentrations to make them significant.

Introducción

El descubrimiento de los insecticidas organoclorados provocó una revolución en la agricultura, ya que hasta entonces el combate de plagas no era eficaz. Sin embargo, el uso y abuso de estos productos durante muchos años dio como resultado la contaminación del ambiente y la acumulación en la grasa de los animales y del hombre (13, 22).

Los insecticidas organoclorados como el DDT y sus metabolitos tienen una alta afinidad por la grasa

y una baja tasa de metabolismo (10), lo que significa que después de una exposición ocupacional o alimentaria permanecen en la grasa del cuerpo por un largo tiempo.

Los plaguicidas clorados son por su persistencia y acumulación, excelentes indicadores del grado de contaminación, por lo que han sido objeto de numerosos estudios en diferentes países (Fig. 1).

Debido al peligro que representa la acumulación de este tipo de sustancias y al creciente interés por la protección del ambiente, en varios países se han promulgado leyes que regulan el uso de los plaguicidas (23, 26). En Costa Rica estos insecticidas han sido utilizados intensamente en agricultura y para el control de los vectores de la malaria, pero no fue sino hasta 1981 que su utilización para fines agrícolas fue regulada en la Ley de Sanidad Vegetal (7).

La presente investigación se hizo con el fin de determinar los niveles de plaguicidas organoclorados acumulados en la grasa de los agricultores costarricenses. Este estudio incluye las determinaciones de los plaguicidas HCB, α-HCH, γ-HCH, heptacloro, epóxido de heptacloro, α-clordano, γ-clordano, aldrin, dieldrin,

¹ Recibido para publicación el 20 de agosto de 1985. Se agradece por el apoyo y la ayuda financiera y técnica al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT), San José, Costa Rica, al Dr. Reinhold Thiel, a Hans y Gertrude Werner, a la Sociedad Alemana de Cooperación Técnica Darmstadt, Alemania Federal, y a la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica. También se agradece muy especialmente a los médicos y microbiólogos que ayudaron en la recolección de las muestras de tejido adiposo.

* Depto. de Farmacología, Facultad de Medicina y Centro de Investigación en Contaminación Ambiental (CICA), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

** Escuela de Química, Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT), San José, Costa Rica.

endrin bifenilos policlorados, p,p'-DDT y los metabólicos o productos de degradación del p,p'-DDT como son p,p'-DDE y el p,p'-DDD*.

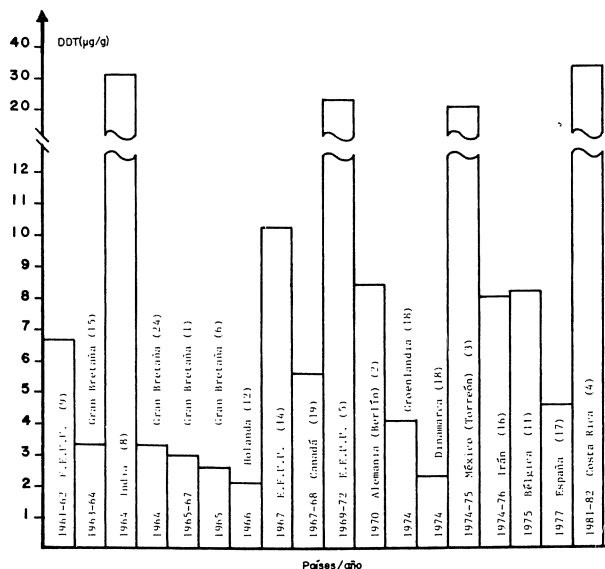


Fig. 1. Resultados comparativos de la contaminación por DDT en grasa humana en diferentes países.

Materiales y métodos

Fueron tomadas 30 muestras de tejido adiposo durante las intervenciones quirúrgicas realizadas a igual número de pacientes en 12 diferentes hospitales de Costa Rica, desde octubre de 1981 hasta febrero de 1982.

Las muestras provinieron de 30 hombres agricultores de diversos lugares del país, con ámbito de edades entre 20 y 81 años. Las muestras fueron recogidas en recipientes de vidrio lavados especialmente para análisis de plaguicidas, cubiertas con papel de aluminio y almacenadas en congelación a -15°C hasta su análisis. Se utilizó el método del Laboratorio de Residuos de Plaguicidas de la Sociedad Alemana de Cooperación Técnica de Darmstadt (25).

Los reactivos utilizados fueron: éter de petróleo para análisis de residuos de plaguicidas $40-60^{\circ}\text{C}$ (Merck 1772), gel de sílice 60 para cromatografía en columna $0.063-0.200$ mm (tamiz de $70-230$ ASTM) Merck 7754, sulfato de sodio, anhidro, para análisis

de residuos (Merck 6649), arena de mar purificada con ácido y calcinada para análisis (Merck 7712), filtros para extracción (No. 603,33 x 94 mm Schleicher and Schull), lana de vidrio previamente lavada con éter de petróleo, n-heptano para análisis de residuos (Merck 4379).

La extracción de las muestras se realizó colocándolas en un soxhlet y se separó su contenido lípido con 200 mL de éter de petróleo durante tres horas.

Posteriormente se evaporó el extracto hasta reducir el volumen a unos 50 mL, que se transfirieron a un balón aforado de 100 mL. Se separó un volumen de 25 mL de esta disolución para calcular el porcentaje de grasa presente en cada muestra de tejido adiposo.

Con el objeto de no sobrepasar la capacidad de separación se colocó una alícuota con menos de 500 mg de grasa en una columna de dos centímetros de diámetro interno por 40 cm de longitud, empacada con 20 g de gel de sílice y una capa de dos o tres centímetros de sulfato de sodio anhidro en la parte superior. Se eluyó con 250 mL de éter de petróleo a una velocidad de dos o tres gotas por segundo.

Las muestras fueron analizadas en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5710A con detector de captura de electrones, en dos columnas de vidrio de dos metros de longitud con un diámetro interno de tres milímetros y un diámetro externo de seis milímetros. Una columna contenía 1.5% de silicona OV-17/1.95% de silicona OV-202 sobre Chromosorb WHP con tamiz 80-100. La otra columna contenía uno por ciento de Dexsil 300 GC sobre Chromosorb WHP con tamiz 100-120.

La temperatura de las columnas fue de 200°C y 190°C respectivamente, la del inyector 250°C y la del detector 300°C . El flujo del gas portador (argón-metano) fue de 23 mL/min en la primera columna y de 30 mL/min en la segunda. Además, fueron analizados en un cromatógrafo de gases DANI 6800 con detector de captura de electrones (Ni-63) en una columna capilar de 30 m de longitud con un diámetro interno de 0.252 mm. Esta columna contenía DB-1. La temperatura de la columna fue programada cuatro minutos a 70°C , tres minutos a 260°C y dos minutos a 260°C , la temperatura del inyector fue de 240°C y la del detector de 270°C . El volumen de inyección fue de un microlitro (Split 80: 1) y se usó el inyector automático Hewlett Packard 7672A.

Los niveles de residuos fueron calculados por la medida del área de la curva, utilizándose para esto un integrador Hewlett Packard 3380A. La precisión

* Lista de abreviaturas:

HCB:	Hexaclorobenceno.
HCH (BHC):	Hexaclorociclohexano.
DDT:	Dicloro difenil tricloroetano.
p,p'-DDE:	2,2-Bis-(p-clorofenil)-1,1-dicloroetileno.
o,p'-DDT:	1-(o-clorofenil)-1-(p-clorofenil)-2,2,2-tricloroetano.
p,p'-DDD:	2,2-Bis (p-clorofenil)-1,1-dicloroetano.
p,p'-DDT:	1,1-Bis-(p-clorofenil)-2,2,2-tricloroetano.

y la reproductibilidad del método fueron establecidas por el análisis de muestras duplicadas. La concentración mínima fue de 0.01 $\mu\text{g/g}$ para todos los compuestos con base en los lípidos extraíbles. Las concentraciones menores a 0.005 $\mu\text{g/g}$ fueron consideradas con no detectables.

La eficiencia del método analítico se determinó mediante la prueba de recuperación, enriqueciendo muestras de grasa previamente analizadas con cantidades conocidas de los plaguicidas a estudiar. Las recuperaciones obtenidas se encuentran en el ámbito de 85-99%.

Resultados y discusión

El Cuadro 1 muestra los niveles promedio y la frecuencia de los plaguicidas organoclorados, en tejido adiposo humano de agricultores, en Costa Rica.

El Cuadro 2 expone los resultados de 30 muestras, agrupados por su procedencia.

El HCB (hexaclorobenceno) aparece en casi todos los especímenes analizados. Es difícil explicar su ausencia en una muestra ya que, debido a su estabilidad y a su uso extenso, se considera omnipresente (20). Sin embargo, el promedio de las muestras de 0.15 $\mu\text{g/g}$ es diez veces menor que el encontrado en Bélgica (11).

Solamente tres muestras presentaron residuos de α -HCH y una muestra de γ -HCH (lindano). El lindano se encontró en España (17) en el 95% de las muestras

y en Costa Rica únicamente en el tres por ciento de los agricultores; en Costa Rica el uso del lindano es muy reducido.

El heptacloro apareció en un 10% de los casos y los niveles encontrados fueron muy bajos, acorde con el metabolismo conocido de este insecticida. El promedio de las concentraciones de epóxido de heptacloro en Costa Rica es de 0.38 $\mu\text{g/g}$, similar al encontrado en Bélgica (11).

Se halló clordano solamente en el 17% de las muestras de los agricultores; en España no se identificó en ninguna muestra de grasa pero sí en el 17.8% de las muestras de leche humana (17).

El aldrín se metaboliza a dieldrín y también es eliminado rápidamente por la bilis (21). El dieldrín, como se observa en el Cuadro 2, fue detectado en un 17% de las muestras estudiadas y representa la suma de aldrín + dieldrín. En el Cuadro 2 se observa que su valor promedio de 0.16 $\mu\text{g/g}$ es inferior a los encontrados en Estados Unidos (5), Gran Bretaña (15) y Bélgica (11) y mayor a los de Groelandia, Dinamarca (18) e Irán (16).

El endrín estuvo en seis muestras con una frecuencia de 20%, contrario a lo determinado en España, donde ninguna muestra contuvo este plaguicida (17).

Las cantidades de DDT que se depositan en el tejido adiposo del hombre exceden bastante a los demás plaguicidas organoclorados (Cuadro 1).

Cuadro 1. Residuos de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo humano (lípidos extraíbles) de agricultores en Costa Rica ($\mu\text{g/g}$).

Plaguicida	Promedio	Ámbito	Frecuencia absoluta %	
HCB	0.15	nd-0.49	29	97
α -HCH	0	nd-0.05	3	10
γ -HCH	0	nd-0.02	1	3
Heptacloro	0	nd-0.06	3	10
Epóxido de heptacloro	0.38	nd-2.00	25	83
α -clordano	0.01	nd-0.20	2	7
Diieldrín	0.16	nd-2.10	5	17
Endrín	0.01	nd-0.13	6	20
p,p'-DDE	45.85	0.17-314.00	30	100
o,p'-DDT	0.70	nd-5.70	29	97
p,p'-DDD	0.63	nd-7.60	22	73
p,p'-DDT	12.08	nd-86.00	29	97
Σ DDT	59.28	0.17-403.60	30	100

* Valor de muestra insuficiente para sacar promedios.

nd = no detectable

Cuadro 2. Residuos de DDI y su metabolitos en tejido adiposo humano de agricultores (lípidos extraíbles) en Costa Rica ($\mu\text{g/g}$).

Muestra No.	Distrito	PROCEDECENCIA		p,p'-DDE	o,p'-DDT	p,p'-DDD	p,p'-DDI	Σ DDI
		Cantón	Provincia					
12	Cutris	San Carlos	Alajuela	314.00	5.70	7.60	76.00	403.30
10	San Rafael	Guatuso	Alajuela	264.00	2.60	3.20	86.00	355.80
29	Guácimo	Guácimo	Limón	179.00	0.52	0.41	26.00	205.93
24	San Ramón	San Ramón	Alajuela	116.00	2.40	2.10	34.00	154.50
28	Siquirres	Siquirres	Limón	119.00	0.74	0.66	14.00	134.40
16	Guápiles	Pococi	Limón	89.00	0.51	0.84	21.00	111.35
6	Venado	San Carlos	Alajuela	29.00	1.90	1.10	31.00	63.00
18	Cañas	Cañas	Guanacaste	46.00	0.50	0.09	2.20	48.79
25	San Ramón	San Ramón	Alajuela	31.00	0.48	0.76	13.00	45.24
4	C Cortés	Osa	Puntarenas	32.00	0.28	0.44	12.00	44.72
22	Corredor	Corredores	Puntarenas	29.00	0.85	0.58	14.00	44.43
27	Pto. Viejo	Sarapiquí	Heredia	26.00	0.87	0.33	8.70	35.90
15	Guápiles	Pococi	Limón	23.00	0.01	0.29	4.50	27.80
20	General	Pérez Zeledón	San José	16.00	0.27	ND	2.30	18.57
9	Grecia	Grecia	Alajuela	7.80	0.24	0.10	1.70	9.84
26	Miramar	Mtes de Oro	Puntarenas	6.20	0.32	0.13	2.40	9.05
23	Palmares	Palmares	Alajuela	7.20	0.17	0.06	1.50	8.93
5	Nicoya	Nicoya	Guanacaste	7.50	0.38	0.04	0.83	8.75
3	Tobosí	El Guarco	Cartago	5.60	0.47	ND	1.40	7.47
19	La Fortuna	Bagaces	Guanacaste	4.30	0.24	0.06	2.80	7.40
7	Monterrey	San Carlos	Alajuela	4.30	0.20	0.03	0.82	5.35
17	Palmera	San Carlos	Alajuela	3.70	0.14	ND	1.40	5.24
1	San Feo	Cartago	Cartago	3.50	0.44	0.06	1.20	5.20
13	Tabarcia	Mora	San José	2.70	0.10	0.05	1.20	4.05
21	San Isidro	Pérez Zeledón	San José	2.30	0.25	ND	0.63	3.18
8	Grecia	Grecia	Alajuela	2.80	0.10	0.02	0.54	3.46
2	Las Juntas	Abangares	Guanacaste	2.30	0.13	ND	0.27	2.70
30	San Isidro	Pérez Zeledón	San José	1.30	0.20	ND	0.49	1.99
11	Sarchí	Valverde Vega	Alajuela	1.50	0.10	ND	0.38	1.98
14	San Ramón	San Ramón	Alajuela	0.17	ND	ND	ND	0.17

El p,p'-DDE se encontró en el 100% de las muestras con una concentración promedio de 45.85 $\mu\text{g/g}$, mayor que la localizada en los habitantes de Torreón en México (18.36 $\mu\text{g/g}$), que es una ciudad en donde para proteger el algodón del ataque por insectos se usa mucho el DDT (3).

El o,p'-DDT es un isómero del p,p'-DDT que está presente en las formulaciones y que también contamina la grasa humana. El promedio identificado fue de 0.70 $\mu\text{g/g}$.

El p,p'-DDD es un metabolito del p,p'-DDT y se encuentra en una concentración de 0.63 $\mu\text{g/g}$. Cuando se da una exposición ocupacional, como en el caso de los agricultores, los niveles de plaguicidas encontrados en los tejidos son más altos que en la población general.

En los agricultores costarricenses el promedio de DDT total fue de 59.28 $\mu\text{g/g}$, de los más elevados que informa la literatura.

Debe tomarse en cuenta que Costa Rica tiene una gran cantidad de territorio situado entre 0-500 metros, que se denomina zona malarica y que durante mucho tiempo se fumigó con el DDT para combatir los vectores del paludismo.

Los agricultores desconocen que los plaguicidas organoclorados dejan residuos en los alimentos que cultivan, los que persisten en el suelo y pueden causar daño a insectos benéficos, a los peces, a los pájaros y al hombre, por lo que se abusan de su empleo, lo que puede manifestarse como una concentración más alta en el tejido adiposo, tal como señala este estudio.

Resumen

Mediante cromatografía gas-líquido se analizó los residuos de plaguicidas en 30 muestras de tejido adiposo humano obtenidas durante operaciones quirúrgicas en 12 hospitales de Costa Rica.

Se detectó los siguientes plaguicidas en las concentraciones que se incluyen: HCB 0.15 $\mu\text{g/g}$, epóxido de heptacloro 0.38 $\mu\text{g/g}$, α -clordano 0.01 $\mu\text{g/g}$, dieldrin 0.16 $\mu\text{g/g}$, endrín 0.01 $\mu\text{g/g}$, p,p'-DDE 45.85 $\mu\text{g/g}$, o,p'-DDT 0.70 $\mu\text{g/g}$, p,p'-DDD 0.63 $\mu\text{g/g}$, p,p'-DDT 12.08 $\mu\text{g/g}$

De α -HCH, de γ -HCH y de heptacloro se obtuvo valores insuficientes para calcular promedio; no se encontró concentraciones detectables de γ -clordano, aldrín y bifenilos policlorados

Literatura citada

1. ABBOTT, D.C.; GOULDING, R.; TATTON, J.O.G. 1968. Organochlorine pesticide residues in human fat in Great Britain. *British Medical Journal* 146:149
2. ACKER, L.; SCHULTE, E. 1974. Chlorkohlenwasserstoffe in menschlichen Fett. *Naturwissenschaften* 61:32.
3. ALBERT, L.; CEBRIAN, M.; MENDEZ, F.; PORTALES, A. 1980. Organochlorine pesticide residues in human adipose tissue in Mexico: results of a preliminary study in three Mexican cities. *Archives of Environmental Health* 35:262-269.
4. BARQUERO, M.; CONSTENLA, M.A. 1985. Residuos de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo humano en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 33(1) En prensa.
5. BURNS, J.E. 1974. Organochloride pesticide and polychlorinated biphenyl residues in biopsed human adipose tissue-Texas, 1969-1972. *Pesticides Monitoring Journal* 7:122-126.
6. CASSIDY, W.; FISHER, A.J.; PEDEN, J.D.; PARRY-JONES, A. 1967. Organochlorine pesticide residues in human fats from Somerset. *Monthly Bulletin of the Ministry of Health (Gran Bretaña)* 26:2-6
7. COSTA RICA. LEY DE SANIDAD VEGETAL. Modificación Ministerios de Agricultura y Ganadería y de Salud. *La Gaceta* 31 de agosto de 1981.
8. DALE, W.E.; COPELAND, F.; HAYES, W.J. 1965. Chlorinated insecticides in the body fat of people in India. *Bulletin World Health Organization* 33:471-477.
9. DALE, W.E.; QUINBY, G.E. 1963. Chlorinated insecticides in the body fat of people in the United States. *Science* 142:593-595
10. DAVIES, J.E. 1973. *Pollution by Pesticides In Pesticide Residues in Man* Ed C.A. Edwards
11. DEJONCKHEERE, W.; STEURBAUT, W.; VERSTRAETEN, R.; KIPS, R.H. 1978. Residues of organochlorine pesticides in human fat in Belgium. *Toxicological European Research* 1:93-98.
12. DEVLIEGER, M.; ROBINSON, J.; BALDWIN, M.K.; GRABTREE, A.N.; VAN DIJK, M.C. 1968. The organochlorine insecticide content of human tissues. *Archives of Environmental Health* 17:759-767.
13. EADES, J.F. 1976. Organochlorine pesticide residues in the Irish environment. *Irish Journal of Agricultural Research* 15:341-348.
14. EDMUNDSON, W.F.; DAVIES, J.E.; HULL, W. 1968. Dieldrin storage levels in necropsy adipose tissue from a South Florida population. *Pesticides Monitoring Journal* 2:86-89.
15. EGAN, H.; GOULDING, R.; ROBURN, I.; TATTON, J.O.G. 1965. Organochlorine pesticide residues in human fat and human milk. *British Medical Journal* 2:66-69
16. HASHEMY-TONKABONY, S.E.; SOLEIMANI-AMIRI, M.J. 1978. Chlorinated pesticide residues in the body fat of people in Iran. *Environmental Research* 16:419-22.
17. HERRERA-MARTEACHE, A.; POLO, L.M.; JODRAL, M.; POLO, G.; MALLOL, J.; POZO, R. 1978. Residuos de plaguicidas en grasa humana en España. *Revista de Sanidad e Higiene Pública* 52:1125-1144
18. JENSEN, G.E.; CLAUSEN, J. 1979. Organochlorine compounds in adipose tissue of Greenlanders and Southern Danes. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 5:617-629.
19. KADIS, V.W.; BREITKREITZ, W.E.; JONAS-SON, O.J. 1970. Insecticide levels in human tissues of Alberta residents. *Canadian Journal of Public Health* 61:413-416.

-
- 20 KORTE, F. 1980. *Okologische chemie* Thieme, Stuttgart, New York. p 212.
21. KORTE, F.; MOERSDORF, K. 1963. Excretion of aldrin C-14 and dieldrin C-14 as well as their metabolites in the bile. *Medicina Experimentalis (Basel)* 8:90-94.
2. KURZEL, R.B.; CETRULO, C.L. 1981. The effect of environmental pollutants on human reproduction, including birth defects. *Environmental Science and Technology* 15: 627-640.
- 23 MARKKULA, M. 1973. Regulation of pesticides in Finland. *Residues Review* 48:117-139.
- 24 ROBINSON, J.; RICHARDSON, A.; HUNTER, C.G.; GRABTREE, A.N.; REES, H.J. 1965. Organochlorine insecticide content in human adipose tissue in Southeastern England. *British Journal of Industrial Medicine* 22:220-229.
25. STEINWANDTER, H.; SCHUTER, H. 1977. Beitrage zur Verwendung von Kieselgel in der Pesticidanalytik. *Zeitschrift fur Analytische Chemie* 286:90-94.
26. STENERSEN, J. 1972. Pesticides for plant protection in Norway: Legislation, use, and residues. *Residue Reviews* 42:91-102.