

Implementación de metodología para la determinación de plaguicidas organoclorados en sangre humana

Implementation of a methodology for the identification of organochlorine pesticides in human blood

Beltetón Martínez, Wilfredo Roberto; Argueta Hidalgo, José Elías

Wilfredo Roberto Beltetón Martínez

wilitin@yahoo.es

Laboratorio Nacional de Referencia, El Salvador

José Elías Argueta Hidalgo

Laboratorio Nacional de Referencia, El Salvador

Alerta

Ministerio de Salud, El Salvador

ISSN-e: 2617-5274

Periodicidad: Semestral

vol. 2, núm. 1, 2019

ralerta@salud.gob.sv

Recepción: 07 Diciembre 2018

Aprobación: 15 Febrero 2019

Publicación: 07 Junio 2019

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/419/4191907010/>

DOI: <https://doi.org/10.5377/alerta.v2i1.74537>

Citación recomendada: Beltetón W, Argueta J. Implementación de metodología para la determinación de plaguicidas organoclorados en sangre humana. Alerta. 2019;2(1):66-70. DOI: 10.5377/alerta.v2i1.74537

INTRODUCCIÓN

Entre los principales contaminantes persistentes se encuentran los plaguicidas organoclorados (POC), los cuales fueron utilizados en El Salvador durante las décadas de 1950 a 1970, principalmente en las zonas de cultivo de algodón.

Actualmente no es común la exposición de los POC, debido a que se encuentran prohibidos por su toxicidad, pero al ser de difícil degradación en el medioambiente sus metabolitos continúan persistiendo con el paso de los años. Aunque los POC no se han utilizado en El Salvador desde 1973, es posible que el suelo aún tenga cierta cantidad de estos contaminantes o sus metabolitos, los cuales podrían ser absorbidos por las plantas y consumidos por seres humanos o animales.

Una vez dentro del cuerpo, los POC y sus metabolitos son almacenados principalmente en tejidos grasos. Los metabolitos abandonan el cuerpo principalmente en la orina, pero también pueden eliminarse en la leche materna y así pasar directamente a los lactantes¹.

Las muestras de suero sanguíneo son adecuadas para medir la exposición humana a contaminantes ambientales. Por ello, las muestras sanguíneas constituyen una buena matriz para los estudios que evalúan las concentraciones de contaminantes².

Para el análisis de contaminantes en sangre debe realizarse una extracción adecuada, que garantice una buena exactitud y precisión en los resultados, para lo cual se eligió utilizar la técnica de micro extracción líquido-líquido dispersiva (MELLD).

La MELLD es una técnica muy útil, económica, rápida y segura que, permite la extracción de analitos orgánicos a microescala. Consiste en separar los interferentes presentes en un pequeño volumen de matriz líquida empleando un agente dispersante y en retirar los analitos utilizando pequeños volúmenes de un agente extractante^{3,4}.

La implementación y desarrollo de esta metodología aumenta la capacidad analítica para realización de investigaciones sobre la exposición a compuestos tóxicos en el humano.

OBJETIVO

Implementar la técnica de micro extracción líquido-líquido dispersiva para la determinación de plaguicidas organoclorados en suero sanguíneo humano.

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio experimental. Se pesaron los estándares y se disolvió cada uno, por separado, en metanol grado HPLC. Se fortificó un litro de agua de conductividad menor a 0,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Se extrajeron los analitos de interés en un cartucho de seis mL con relleno C-18 de 500 mg, marca JT Baker, por la técnica SPE, 500 mL de agua, eluyendo las moléculas retenidas en el relleno con Hexano grado HPLC. Se preparó una curva de calibración de estándares (Tabla 1) a partir del extracto en hexano grado HPLC mediante diluciones convenientes para: Endosulfán (α y β), 4,4'-DDE, Aldrín, 4,4'-DDD, Dieldrín, Lindano y Heptaclor.

Posteriormente se fortificaron matrices (suero sanguíneo humano) para determinar las recuperaciones de los analitos de interés a cinco niveles de concentración (Tabla 2) mediante la técnica de microextracción líquido-líquido dispersiva asistida con agitación Vórtex y ultrasonido, en conjunto con un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies* Modelo 6890N, con detector de microcaptura de electrones (μECD), programado bajo las condiciones descritas para la cuantificación de plaguicidas organoclorados en agua potable⁶. Se inyectó dos μL de extracto, utilizando una columna capilar DB-608 y gas nitrógeno de 99,999 % de pureza para arrastrar la muestra. Los resultados fueron procesados utilizando el software *OpenLAB ChemStation*.

Tratamiento de las muestras:

Las muestras de suero sanguíneo se descongelaron a temperatura ambiente y se procesaron en el menor tiempo posible. Se tomaron 200 μL de suero y se colocó en agitador Vórtex durante cinco segundos a 2500 rpm. Luego se adicionaron 200 μL de metanol grado HPLC como agente dispersante y se colocó en agitador Vórtex durante 30 segundos. Posteriormente se adicionaron tres mL de n-hexano grado cromatográfico como agente extractante. Después de agitar en un Vórtex durante dos min, el extracto se colocó en ultrasonido durante diez min con el fin de asistir la disolución de los plaguicidas. A continuación se centrifugó a 3500 rpm durante tres min para romper las emulsiones, favorecer la extracción y evitar interferencias en el extracto, después se separaron las fases con pipeta Pasteur de vidrio⁵.

A la muestra se le adicionaron de nuevo tres mL del agente extractante y se repitió el proceso hasta unir las dos fases líquidas finales y obtener un extracto limpio. Por último, al extracto se le adicionó un g de sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) para eliminar posibles interferentes de la fase líquida. Luego se colocó en Vórtex durante 30 segundos, se centrifugó a 3500 rpm durante tres minutos y luego se colocó en viales

para cromatografía de gases. Para la extracción se llevó blanco reactivo y blanco de muestra para descartar posibles interferentes.

Debido a que los plaguicidas organoclorados se están determinando a nivel de trazas (ppb), para los resultados se establece como aceptable un rango de recuperación entre el 70 % a 130 %.

RESULTADOS

Las recuperaciones promedio entre inyecciones de analito se muestran en la Tabla 3. Se encontró un coeficiente de variación entre inyecciones menor al 10 %. La señal correspondiente a los analitos de interés se muestra en el Gráfico 1 y Gráfico 2.

TABLA 1
Concentración de estándares de calibración (ppb)

Concentración (ppb)						
Analito	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	Nivel 5	R
Lindano	0.623	0.935	1.246	1.557	15.575	1.0000
Heptaclor	0.548	0.822	1.096	1.370	13.702	0.9997
Aldrín	0.143	0.214	0.285	0.357	3.567	0.9994
Endosulfán Alfa	0.407	0.611	0.814	1.018	10.175	0.9997
4,4'-DDE	0.540	0.809	1.079	1.349	13.486	0.9997
Dieldrín	0.518	0.777	1.036	1.295	12.952	0.9998
4,4'-DDD	0.534	0.800	1.067	1.334	12.338	1.0000
Endosulfán Beta	0.175	0.263	0.351	0.438	4.384	1.0000

Elaboración propia.

TABLA 2
Niveles de fortificación matriz suero sanguíneo humano (ppb)

Concentración (ppb)					
Analito	NIVEL 1	NIVEL 2	NIVEL 3	NIVEL 4	NIVEL 5
Lindano	1.921	2.881	3.842	6.723	9.604
Heptaclor	1.690	2.535	3.380	5.915	8.450
Aldrín	0.587	0.880	1.173	2.053	2.933
Endosulfán Alfa	1.255	1.882	2.510	4.392	6.275
4,4'-DDE	1.663	2.495	3.327	5.822	8.317
Dieldrín	1.597	2.396	3.195	5.591	7.987
4,4'-DDD	1.645	2.468	3.290	5.758	8.225
Endosulfán Beta	0.541	0.811	1.081	1.892	2.703

Elaboración propia.

TABLA 3
 Recuperaciones de fortificación matriz suero sanguíneo humano

Analito	Concentración (ppb)									
	N1	CV	N2	CV	N3	CV	N4	CV	N5	CV
Lindano	92.17	2.96	77.91	1.00	73.50	0.44	78.39	0.27	71.45	1.36
Heptaclor	108.50	2.56	93.31	2.14	82.81	0.12	79.37	1.60	74.88	1.00
Aldrín	103.25	5.21	89.64	11.67	84.49	1.26	74.44	3.24	71.12	2.24
Endosulfán Alfa	120.71	2.20	93.32	0.71	89.86	0.29	83.54	0.86	72.16	2.87
4,4'-DDE	127.48	2.56	105.57	0.34	106.37	0.16	109.54	0.86	99.47	3.09
Dieldrín	116.03	2.72	89.27	1.12	88.58	5.20	87.20	1.69	77.34	0.47
4,4'-DDD	111.68	1.14	94.41	6.75	96.65	0.03	98.75	0.76	86.19	0.03
Endosulfán Beta	119.37	8.52	102.60	2.18	93.79	0.48	96.51	1.99	81.69	0.24

Elaboración propia.

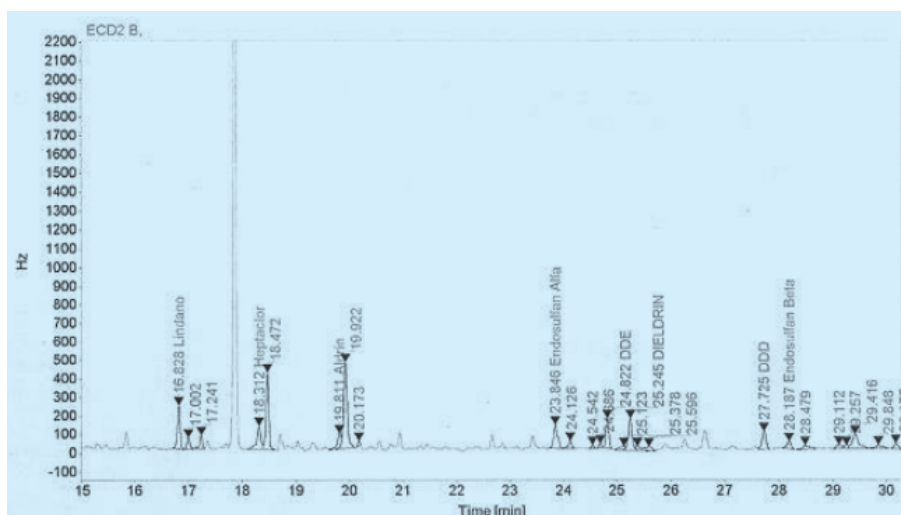


GRÁFICO 1
 Nivel 5 de fortificación matriz suero sanguíneo humano (ppb)
 elaboración propia a partir de los resultados de implementación.

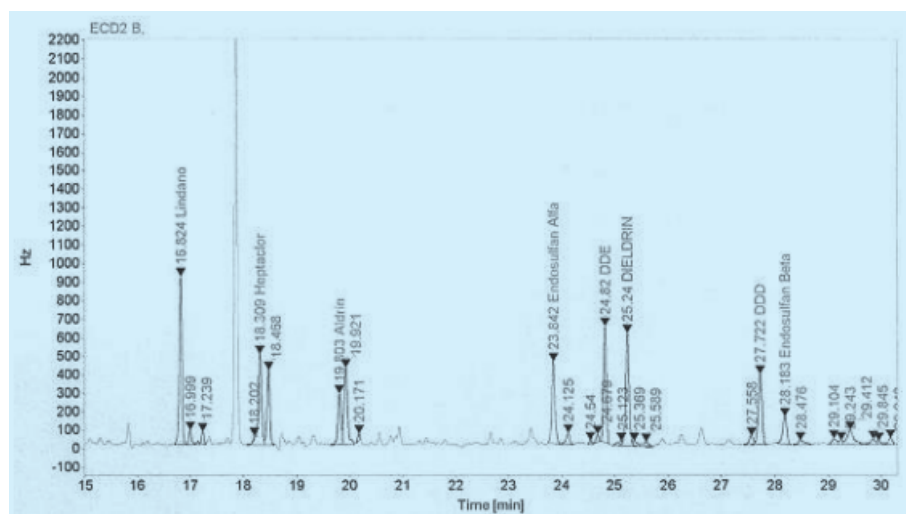


GRÁFICO 2

Nivel 5 de fortificación matriz suero sanguíneo humano (ppb)

elaboración propia a partir del estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Resúmenes de Salud Pública - DDT, DDE y DDD [Internet]. [citado 16 de enero de 2019]. Disponible en: https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_ph35.html
2. Wang HS, Chen ZJ, Wei W, Man YB, Giesy JP, Du J, *et.al.* Concentrations of organochlorine pesticides (OCPs) in human blood plasma from Hong Kong: Markers of exposure and sources from fish. *Environ. Int.* 2013. 54, 18-25.
3. Fernández J. A novel dispersive liquid-liquid micro extraction (DLLME) gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) method for the determination of eighteen biogenic amines in beer. *J. Food Control.* 2012. 25: 380-388.
4. Cortada, C. Nuevas metodologías y aplicaciones de las técnicas de microextracción líquido-líquido para la determinación de contaminantes orgánicos. Tesis doctoral. 2012. p. 17-22.
5. Bedoya S, García A, Londoño AL, Restrepo B. Determinación de residuos de plaguicidas en suero sanguíneo de trabajadores de cultivo de café y plátano. *Rev Colomb Quim.* 2014. 43(3): 11-16.
6. Argueta Hidalgo JE, Beltetón Martínez W. Implementación de cromatografía de gases para cuantificación de plaguicidas organoclorados en agua potable. *Revista ALERTA* [Internet]. 2018; 1 (2). Disponible en: <https://alerta.salud.gob.sv/?p=1895>