



**Universidad Autónoma de Guerrero
Facultad de Ciencias Químico Biológicas
Facultad de Ciencias de la Tierra**

MAESTRÍA EN BIOCENCIAS

**“Determinación de plaguicidas organoclorados en suero de
fumigadores del estado de Guerrero”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN BIOCENCIAS**

P R E S E N T A:

Biol. Adalid Ramírez Casarrubias

Director: Dr. Gerardo Huerta Beristain

Codirectora: Dra. Verónica Antonio Vejar



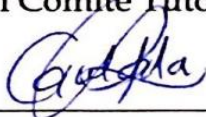
Chilpancingo de los Bravo, Gro.

Marzo de 2019

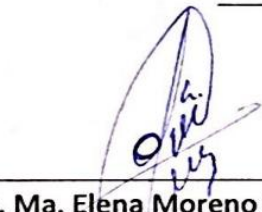
APROBACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Chilpancingo, Guerrero, siendo los 11 días del mes de enero de dos mil diecinueve, se reunieron los miembros del Comité Tutorial designado por la Academia de Posgrado de la Maestría en Biociencias, para examinar la tesis titulada “Determinación de plaguicidas organoclorados en suero de fumigadores del Estado de Guerrero”, presentada por el alumno: **Adalid Ramírez Casarrubias**, para obtener el Grado de Maestría en Biociencias. Después del análisis correspondiente, los miembros del comité manifiestan su aprobación de la tesis, autorizan la impresión final de la misma y aceptan que, cuando se satisfagan los requisitos señalados en el Reglamento General de Estudios de Posgrado e Investigación Vigente, se proceda a la presentación del examen de grado.

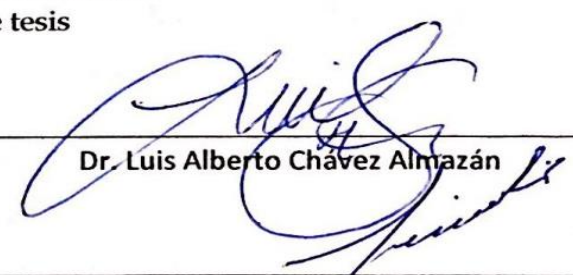
El Comité Tutorial



Dr. Gerardo Huerta Beristain
Dirección de tesis



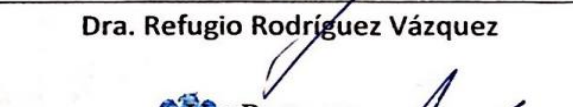
Dra. Ma. Elena Moreno Godínez




Dr. Luis Alberto Chávez Almazán




Dra. Patricia Álvarez Fitz



Dra. Refugio Rodríguez Vázquez



Dra. Natividad Castro Alarcón
Coordinadora de la maestría en
Biociencias de la FCQB



Dr. Oscar del Moral Hernández
Director de la Facultad de Ciencias Químico
Biológicas

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Toxicología de la Unidad Especializada de Investigación en Microbiología, Laboratorio de Investigación en Biotecnología de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, en la ciudad de Chilpancingo de los Bravo, Guerrero y en el Laboratorio de Análisis de Residuos de Plaguicidas del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Culiacán Sinaloa, México.

Bajo la dirección del:
Dr. Gerardo Huerta Beristain

La codirección de:
Dra. Verónica Antonio Vejar

La asesoría externa de:
M.I. Pedro de Jesús Bastidas Bastidas
M.C. Daysi Navez González
Dra. Refugio Rodríguez Vázquez

Al comité tutorial:
Dra. Ma. Elena Moreno Godínez
Dra. Patricia Álvarez Fitz
Dr. Luis Alberto Chávez Almazán

Durante el período en que el C. Adalid Ramírez Casarrubias cursó la Maestría en Biociencias recibió la beca de CONACYT con número de CVU: 829462.

Agradecimientos

Al comité tutorial por sus revisiones y aportaciones técnico-académicas, integrado por el Dr. Gerardo Huerta Beristain, Dra. Verónica Antonio Vejar, Dra. Patricia Álvarez Fitz, Dra. Ma. Elena Moreno Godínez, Dr. Luis Alberto Chávez Almazán y Dra. Refugio Rodríguez Vázquez.

M.C. Daysi Navez González por permitirme trabajar en su laboratorio, facilitándome toda la asesoría técnica del equipo de laboratorio.

M.I. Pedro de Jesús Bastidas Bastidas por el apoyo brindado en el análisis cromatográfico de todas las muestras, compartir su experiencia y saberes del mundo de la cromatografía.

Dr. Gerardo Huerta Beristain, por haber aceptado dirigir este trabajo, por toda su experiencia y conocimientos compartidos para mi crecimiento personal y profesional. Usted es una persona que admiro y respeto mucho por ser un gran investigador, pero sobretodo un “gran ser humano”.

Agradezco en general a todo el equipo “GHB” por su compañerismo, actitud positiva y amigable, la cual influyó para trabajar en un ambiente armonioso.

Dedicatorias

A mi familia, principalmente mis padres por brindarme su apoyo y acompañarme con amor durante todas las etapas de mi vida. Porque me han enseñado que si se cree todo es posible y por sus palabras de fortaleza; manos a la obra, esfuérate y se valiente, no temas ni te acobardes porque Dios está contigo, Él no te fallará ni te abandonará. La vida no me alcanzaría para poder pagar todo lo que han hecho por mí, gracias por estar siempre.

¡Ahora pues, Dios, te doy gracias y alabo tu glorioso nombre! 1 Crónicas 29:13.

Índice

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Material y métodos.....	3
Resultados.....	5
Discusión.....	13
Conclusión.....	16
Referencias.....	17
Material suplementario.....	24

Niveles de plaguicidas organoclorados y su relación con el tiempo de exposición, edad e índice de masa corporal en fumigadores urbanos de Guerrero, México.

Adalid Ramírez-Casarrubias¹, Patricia Álvarez-Fitz², Ma. Elena Moreno-Godínez³, Luis A. Chávez-Almazán⁴, Verónica Antonio-Véjar³, Refugio Rodríguez-Vázquez⁵, Pedro de Jesús Bastidas Bastidas⁶, Gerardo Huerta-Beristain¹.

¹Laboratorio de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo Gro., México.

²Cátedras CONACYT-UAGRO. Laboratorio de Toxicología y Salud Ambiental, Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo Gro., México.

³Laboratorio de Toxicología y Salud Ambiental, Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo Gro., México.

⁴Banco de Sangre Regional Zona Centro, Secretaría de Salud de Guerrero, Chilpancingo Gro., México.

⁵Laboratorio de Xenobióticos, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México, D.F.

⁶Laboratorio de Análisis de Residuos de Plaguicidas, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Culiacán Sinaloa, México.

Resumen

En México, los plaguicidas organoclorados (OCPs) se han utilizado ampliamente en programas de salud pública y en la agricultura para mejorar la productividad en las cosechas, lo que ha provocado una exposición crónica de la población. Los OCPs son clasificados como compuestos orgánicos persistentes, ellos son altamente solubles en lípidos y persistentes en el medio ambiente. Por tal motivo, el objetivo de este estudio fue evaluar las concentraciones de OCPs en suero de 49 fumigadores urbanos del estado de Guerrero y su relación con el tiempo de exposición, edad e índice de masa corporal. La determinación de OCPs se realizó mediante un método de extracción y purificación en fase sólida. La cuantificación se realizó por cromatografía de gases con detector de captura de electrones (GC-ECD). Las concentraciones de OCPs en suero de fumigadores expresados en medianas (ng/mL) fueron: hexaclorobenceno (HCB) (7.80), β -hexaclorociclohexano (β -HCH) (11.30), 4,4'-diclorodifeniletileno (p,p'-DDE) (16.05), 2,4'-diclorodifeniltricloroetano (o,p'-DDT) (10.78), 4,4'-Diclorodifeniltricloroetano (p,p'-DDT) (15.51), metoxicloro (8.26), 4,4'-diclorodifenildicloroetano p,p'-DDD (7.96), sulfato endosulfán (8.65) y γ -hexacloroheptano (γ -HCH) (7.61). De éstos, el p,p'-DDE fue detectado en el 100% de las muestras. El isómero p,p'-DDT se encontró en mayor concentración en la Región Costa Grande (24.31 ng/mL), mientras que el isómero p,p'-DDE en la región Costa Chica (18.17 ng/mL). Los fumigadores con mayor tiempo de exposición (>10 años) y con edad mayor a 45 años presentaron los niveles más altos de OCPs a excepción de sulfato endosulfán. La asociación del nivel de OCPs con el índice de masa corporal (IMC) se encontraron diferencias entre los grupos con β -HCH, una correlación positiva con p,p'-DDD y una correlación negativa con o,p'-DDT. La información generada puede ser útil en el diseño de estudios que expliquen el papel de estos contaminantes en la salud de la población de esta región y para el establecimiento de políticas públicas y programas de prevención y control.

Palabras clave: Plaguicidas organoclorados, suero sanguíneo, fumigadores, exposición.

Introducción

Los plaguicidas organoclorados (OCPs) son compuestos orgánicos con átomos de cloro, que se caracterizan por su alta estabilidad química, baja solubilidad en agua, alta solubilidad en disolventes orgánicos y alta resistencia a la degradación química y biológica (Mrema *et al.*, 2012; Jayaraj *et al.*, 2016). Además, la afinidad de los OCPs por los lípidos contribuye a su bioacumulación y biomagnificación en los diferentes niveles tróficos (Tanabe, 2002; Manaca *et al.*, 2011). En México, el uso de OCPs en la agricultura comenzó en la década de 1940 con la llegada de la revolución verde (González-Farías *et al.*, 2002; Albert, 2005) y se incluyeron en programas de salud pública, para el control de enfermedades causadas por vectores así como para el combate de ectoparásitos que afectaban al ganado y al hombre, pero debido a los diversos efectos de los OCPs en el ambiente, su uso fue prohibido (Gallardo-Díaz *et al.*, 2003; Coleman *et al.*, 2008; Chávez-Almazán *et al.*, 2014). Sin embargo, diferentes investigaciones han reportado la presencia de OCPs en tejido adiposo, leche materna y suero de poblaciones expuestas (Moreno *et al.*, 2004; Jiménez *et al.*, 2006; Waliszewski *et al.*, 2001; 2013; Chávez-Almazán *et al.*, 2014). A pesar de las legislaciones para el control sobre uso y manejo de plaguicidas, en investigaciones recientes, la exposición a plaguicidas se ha asociado con trastornos a la salud humana y diferentes efectos ambientales, principalmente de OCPs prohibidos y restringidos (Jayaraj *et al.*, 2016; Lyall *et al.*, 2017). Las principales vías de ingreso de OCPs al organismo son por vía dérmica, oral y respiratoria, una vez ingeridos se dirigen al sistema circulatorio transportándose en los lípidos y lipoproteínas del suero sanguíneo, y posteriormente se depositan en el tejido adiposo de acuerdo con el coeficiente de compartición entre los lípidos sanguíneos y los tisulares (Herrero-Mercado *et al.*, 2011; Daley *et al.*, 2014). Debido a la resistencia a los procesos metabólicos, la eliminación de OCPs es un proceso muy lento, cuya cinética puede variar entre las personas estudiadas y durar toda la vida (Dirtu *et al.*, 2013; Daley *et al.*, 2014).

La exposición prolongada a OCPs aumenta los riesgos a la salud mostrando efecto a nivel; hepático, renal y de comportamiento (Peres *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2007), desarrollo mental y psicomotor (Sagiv *et al.*, 2008), alteración del sistema endocrino (Mnif *et al.*, 2011), trastornos del sistema neurológico e inmunológico (Karmaus *et al.*, 2003), endometriosis y

criptorquidias (Wolff *et al.*, 2000). Además los OCPs se han asociado con diferentes tipos de cánceres en humanos (ATSDR, 2002, 2005; Loomis *et al.*, 2015; Louis *et al.*, 2017).

Por otro lado los fumigadores de control de vectores con mayor edad estuvo ocupacionalmente expuesta a dichos plaguicidas durante el proceso de manipulación y aplicación, por carencia de protección o por el uso inapropiado de equipos de trabajo, esto se debe a la falta de capacitación sobre el uso y manejo adecuado de los plaguicidas (Dalvie *et al.*, 2009; Ahouangninou, 2011). También los fumigadores están expuestos a derrame de plaguicidas en la etapa de preparación de la solución de rociado, por el uso de rociadores defectuosos y por la pulverización bajo condiciones climáticas inadecuadas (Khan y Damalas, 2015; Khan *et al.*, 2015). Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar las concentraciones de OCPs en suero de fumigadores y su relación con el tiempo de exposición, edad e índice de masa corporal.

Material y métodos

Selección de muestras

Mediante muestreo no probabilístico se seleccionaron hombres de 19 a 72 años de edad originarios y residentes de la zona Centro, Costa Chica y Costa Grande del estado de Guerrero, México. Todos los participantes firmaron un consentimiento informado y se les aplicó una encuesta para obtener información personal, sociodemográfica y de exposición a plaguicidas. Se obtuvieron 5 mL de sangre periférica por venopunción, con el sistema Vacutainer™ (Becton, Dickinson and Company) sin anticoagulante. Las muestras de sangre obtenidas se centrifugaron a 2500 rpm durante 10 min para la separación del suero sanguíneo y fueron almacenadas a -20° C hasta la extracción de plaguicidas para el análisis cromatográfico.

Reactivos

Estándares: Hexaclorobenceno (HCB), β -Hexaclorociclohexano (β -HCH), 4,4'-Diclorodifenildicloroetileno (p,p'-DDE), 2,4'-Diclorodifeniltricloroetano (o,p'-DDT) y 4,4'-Diclorodifeniltricloroetano (p,p'-DDT), fueron adquiridos de Sigma Aldrich (PESTANAL®)

con pureza de 99%. Los disolventes para realizar la extracción de plaguicidas fueron hexano, metanol y éter etílico grado cromatográfico (JT Baker®). Todos los estándares certificados se diluyeron en hexano. A partir de las soluciones de los estándar individuales, se prepararon las soluciones madre y soluciones de trabajo.

Extracción y purificación de plaguicidas

Las muestras de suero (200 µL) almacenadas a -20 °C fueron fortificadas con cada uno de los OCPs grado analítico a una concentración de 80 ng/mL. Se añadieron 2 mL de metanol a 200 µL de suero fortificado y la solución se agitó durante 2 min. Posteriormente se adicionaron 10 mL de una mezcla de éter etílico/hexano (1:1 v/v), la solución se centrifugó durante 10 min a 2500 rpm y se separó la fase orgánica, este procedimiento se repitió dos veces más. La fase orgánica se evaporó con corriente de nitrógeno hasta obtener 1 mL, ésta se colocó en una columna pre-empacada (jeringa previamente empacada con 0.6 g de alúmina) y se eluyó con hexano, hasta obtener 40 mL. Después el extracto con hexano se evaporó completamente bajo una corriente suave de nitrógeno. El residuo seco se redisolvió en 1 mL de hexano y se colocó en viales para ser analizado por cromatografía de gases con detector de captura de electrones (GC-ECD) (Moreno *et al.*, 2004; Jiménez *et al.*, 2006).

Condiciones cromatográficas

El cromatógrafo de gases utilizado para la cuantificación de OCPs fue un Agilent 7890B con detector de captura de electrones (ECD) y una columna Agilent CP9074 VF-5 Pesticides (0 °C-350 °C): 30 m x 250 µm x 0.25 µm, con inyector operado en modo “splitless” (2 µL). Las temperaturas del inyector y detector fueron de 250 y 300 °C, respetivamente. Como acarreador y gas auxiliar se utilizó nitrógeno a un flujo de 30 mL/min. La temperatura del horno fue de 100 °C durante 2 min, seguido de un aumento de 20 °C/min hasta 170 °C, manteniéndose a esta temperatura durante 1.25 min, y por último un aumento de 4 °C/min hasta 275 °C manteniéndose a esa temperatura durante 12 min. El tiempo de la corrida cromatográfica por cada muestra fue de 45 min.

Desempeño del método

La validación del método de extracción en fase sólida (SPE) y cuantificación por cromatografía de gases se llevó a cabo determinando la linealidad, exactitud, límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ) y la precisión.

Las curvas de calibración se obtuvieron inyectando soluciones estándar de referencia por triplicado. El rango de concentración probado fue de 5-200 ng/mL para cada plaguicida. Para la linealidad se aceptaron coeficientes de determinación >0.98 . La exactitud se evaluó mediante el cálculo de porcentaje de recuperación de acuerdo con un rango de recuperación aceptable de 70-120% ($\% \text{ recuperación} = \frac{\text{Concentración obtenida}}{\text{Concentración esperada}} \times 100$) y la precisión con coeficientes de variación no mayores a 20%, analizando muestras de suero fortificados a concentraciones conocidas (AOAC, 1999; Miller y Miller, 2005).

Análisis de los datos

Se evaluó el tipo de distribución que tenía cada una de las variables (características de los fumigadores). También se analizó mediante estadística descriptiva las concentraciones de los OCPs (media, desviación estándar, mediana, rango). Las comparaciones entre las concentraciones de OCPs con el tiempo de exposición, la edad e índice de masa corporal fueron evaluadas mediante la prueba de Kruskal-Wallis y se realizaron correlaciones de Spearman para observar la relación entre las variables. Todas las pruebas fueron realizadas con un nivel de confianza del 95 % con el programa Stata versión 13.0 (Stata Corp., College Station, TX).

Resultados

Características del desempeño del método

Se evaluaron los parámetros analíticos del método de extracción de plaguicidas en fase sólida así como del método de cromatografía de gases, de cada uno de los OCPs. La linealidad se evaluó con las curvas de calibración obteniéndose coeficientes de determinación superiores a 0.98 en el rango de 5 a 200 ng/mL y porcentajes de recuperación entre 77.63 y 116.75 (Figura complementaria 1). Para el método de cromatografía de gases se obtuvieron

coeficientes de determinación superiores a 0.99 (Figura complementaria 2), la sensibilidad del método se representa con el LOD con un rango de 0.085 a 2.275 ng/mL y con el LOQ con un rango de 0.255 a 6.827 ng/mL, para los diferentes analitos, la exactitud se muestra como el porcentaje de recuperación obteniéndose porcentajes dentro del rango aceptado (74.57 al 119.75 %), y la precisión del método se evaluó con los coeficientes de variación, para todos los analitos se obtuvieron coeficientes de variación no mayores a 20%, considerados dentro del rango aceptable. De acuerdo a estos resultados la extracción en fase sólida es eficiente para los analitos (OCPs) estudiados en muestras de suero sanguíneo (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros analíticos del método de cromatografía de gases con detector de captura de electrones.

Plaguicida	RT (min)	Curva de calibración	R^2	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	% Recuperación	% CV
HCB	10.706	$y = 0.850x - 5.132$	0.99	0.085	0.255	74.57±5.91	7.92
β -HCH	11.654	$y = 1.264x - 12.85$	0.99	0.228	0.684	98.31±17.08	17.37
p,p'-DDE	19.598	$y = 0.949x - 5.354$	0.99	0.471	1.414	84.52±6.78	8.02
o,p'-DDT	21.449	$y = 1.338x - 10.896$	0.99	0.853	2.560	111.89±11.38	10.17
p,p'-DDT	23.009	$y = 1.28x - 0.399$	0.99	2.275	6.827	119.75±7.60	6.34

RT= tiempo de retención; LOD= límite de detección; LOQ= límite de cuantificación; CV= coeficiente de variación y R^2 = coeficiente de determinación.

La técnica de extracción y análisis de OCPs en pequeños volúmenes demostró ser idóneo para la determinación de la residualidad de estos compuestos; a pesar de la complejidad de la muestra, se obtuvieron perfiles cromatográficos con picos bien definidos y líneas base poco fluctuantes (Figura 1). En la figura 1A se muestra un cromatograma resultado de la inyección de una mezcla de OCPs disueltos en hexano a una concentración de 50 ng/mL. En la figura 1B se muestra un cromatograma de muestras de suero fortificado con los estándares de OCPs después del proceso de extracción en fase sólida. Estos resultados indican que el método es eficiente para el monitoreo efectivo de los residuos de plaguicidas organoclorados en suero humano.

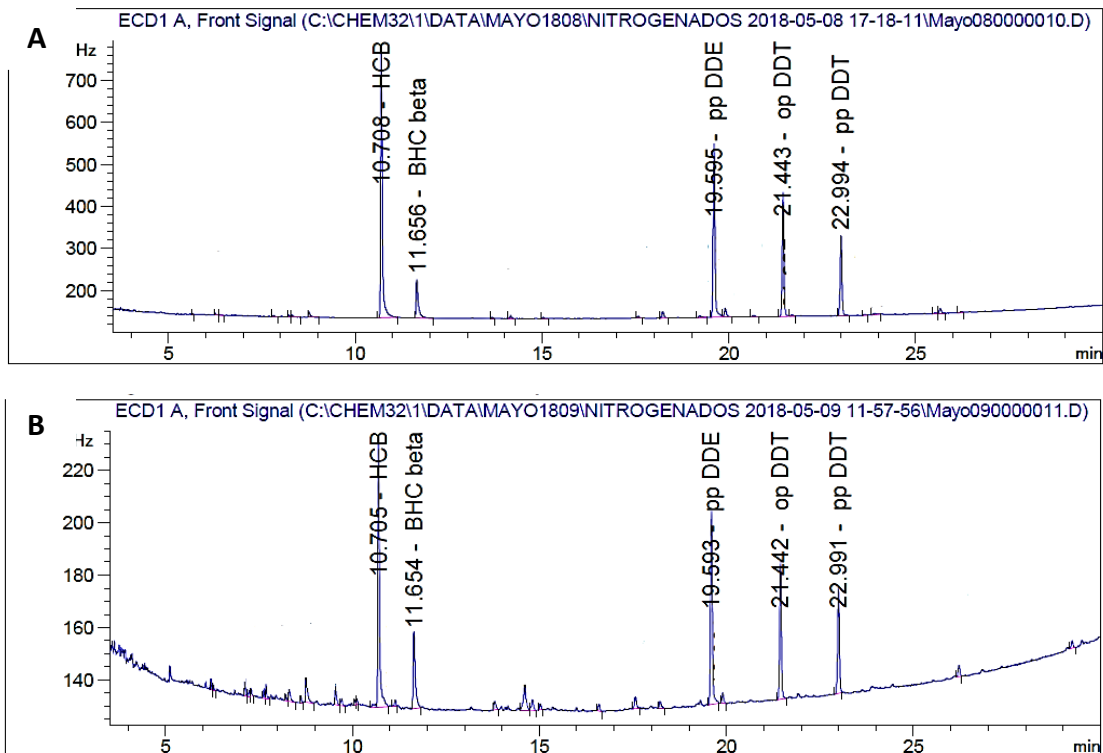


Figura 1. Tiempos de retención de los OCPs. A) Cromatograma de GC-ECD obtenido de una mezcla de plaguicidas organoclorados a una concentración de 50 ng/mL. B) Cromatograma de GC-ECD obtenido a partir de la SPE de una muestra de suero sanguíneo fortificado con 80 ng/mL con cada uno de los plaguicidas.

Características generales de la población de estudio

La población de estudio la conformaron 49 fumigadores con una edad promedio de 37.2 ± 1.6 años, con un rango de 19 a 72 años y un promedio del índice de masa corporal de 29.5 ± 0.7 con un rango de 20.3 a 43.1, el 48.9% de la población estuvo en categoría de obesidad, 28.5% en sobrepeso y el 22.4% en normal. Los participantes fueron procedentes de tres regiones del estado de Guerrero. Se incluyeron 23 fumigadores de la región Centro y 13 fumigadores tanto de la región Costa Chica como de la región Costa Grande. El tiempo de exposición de los fumigadores fue de 0.2 a 41 años, al momento de fumigar el 40.8% de los fumigadores refirió no usar material de protección (Tabla 2). También refirieron que actualmente los plaguicidas que usan con mayor frecuencia son los del grupo químico carbamatos, seguido de los organofosforados y el 6.1% recuerda haber utilizado el DDT.

Tabla 2. Características generales de la población de fumigadores

Variable	n = 49 ^a	Rango ^b	Percentiles	
			25	75
Edad (años)	37.2 (1.6)	19-72	32	46
Tiempo de exposición (años)	5.5 (1.2)	0.2-41	3	10
Tiempo rociando plaguicidas (horas/día)	5.49 (1.2)	1-8	3.5	6.5
IMC (kg/m ²)	29.5 (0.7)	20.3-43.1	26.18	34.08
Colesterol (mg/dL)	151.4 (4.9)	94-274	132.5	171
Triglicéridos (mg/dL)	169.9 (13.1)	41-660	114	245
Uso de material de protección	29 (59.2 %)			

^aValores expresados en medias geométricas y (error estándar). ^bEl rango esta expresado en valores mínimos y máximos.

Concentración de los OCPs en suero de fumigadores del estado de Guerrero

Se analizaron 49 muestras de suero sanguíneo de fumigadores, detectándose nueve plaguicidas. HCB, β -HCH, p,p'-DDE, o,p'-DDT, p,p'-DDT, se detectaron en más del 80% de las muestras, sin embargo el p,p'-DDE fue detectado en el 100% de las muestras analizadas con una concentración mediana de 16.05 ng/mL, con un valor máximo de 84.5 ng/mL. Por otro lado el metoxicloro, p,p'-DDD, sulfato endosulfán y γ -HCH se detectaron en menos del 60% de las muestras. De estos plaguicidas el metoxicloro fue el de menor frecuencia detectándose en un 10.2% de las muestras de suero con una concentración mediana de 8.26 ng/mL. El plaguicida β -HCH fue el de mayor concentración detectado con (150.9 ng/mL), seguido de p,p'-DDE con 84.5 ng/mL. El 75% de los fumigadores tiene las concentraciones más altas de p,p'-DDT y p,p'-DDE con 11.6 y 11.0 ng/mL respectivamente, las concentraciones más bajas fueron; HCB (6.4 ng/mL) y metoxicloro (6.9 ng/mL). En el 25% de la población igualmente se detectaron p,p'-DDT (23.4 ng/mL) y p,p'-DDE (25.8 ng/mL) con las concentraciones más altas (Tabla 3).

Tabla 3. Concentraciones de los OCPs determinados en muestras de suero de fumigadores

Plaguicidas	Frecuencia (%)	Mediana	Rango	Percentiles	
				25	75
HCB	40 (81.6)	7.80	3.0 - 34.9	6.4	8.9
β -HCH	43 (87.7)	11.30	3.2 - 150.9	9.2	23.2
p,p'-DDE	49 (100)	16.05	5.3 - 84.5	11.0	25.8
o,p'-DDT	41 (83.6)	10.78	3.2 - 45.4	10.2	11.7
p,p'-DDT	42 (85.7)	15.51	3.4 - 74.1	11.6	23.4
Metoxicloro	5 (10.2)	8.26	5.1 - 12.6	6.9	8.9
p,p'-DDD	16 (32.6)	7.96	7.2 - 17.9	7.4	9.0
γ -HCH	25 (51)	7.61	6.6 - 8.9	7.2	7.8
Sulfato endosulfán	23 (46.9)	8.65	5.8 - 11.7	7.2	9.4

Valores expresados en ng/mL.

Comparación de los niveles de OCPs en suero de fumigadores por región del estado de Guerrero

Como se mencionó anteriormente de las 49 muestras de suero sanguíneo de fumigadores analizadas para la detección de OCPs, 23 correspondieron a la región Centro, 13 a la región Costa Chica y 13 a la región Costa Grande. En la tabla 4 se reportan las medianas para cada plaguicida por región del Estado, observándose gran variabilidad en las concentraciones de OCPs en los fumigadores provenientes de las distintas regiones. Se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de p,p'-DDT y γ -HCH ($p < 0.05$). En los fumigadores de Costa Grande se registraron los niveles más altos de los metabolitos p,p'-DDT y β -HCH con medianas de 24.31 y 23.0 ng/mL respectivamente, mientras que en los fumigadores de la región Centro se obtuvieron los valores más bajos de β -HCH con una mediana de 10.73 ng/mL. Los fumigadores de la región Costa Chica presentaron los niveles de p,p'-DDE más altos (18.17 ng/mL), mientras que en la región Centro se detectó la concentración más baja de este metabolito (13.33 ng/mL). Las concentraciones de los isómeros o,p'-DDT y p,p'-DDD, así como de HCB y sulfato endosulfán no mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los fumigadores de todas las regiones estudiadas. Por otro lado las concentraciones más altas de γ -HCH se detectaron en los fumigadores de Costa Grande con una mediana de 8.9 ng/mL.

Tabla 4. Niveles de OCPs determinados en muestras de fumigadores por región del estado de Guerrero

	Centro (n=23)	Costa Chica (n=13)	Costa Grande (n=13)	<i>p</i>
HCB	7.89	7.36	8.03	0.68
β-HCH	10.73	16.31	23.0	0.39
p,p'-DDE	13.33	18.17	16.05	0.15
o,p'-DDT	11.01	10.45	9.72	0.10
p,p'-DDT	14.98 ^a	13.06 ^a	24.31 ^b	0.05
Metoxicloro	9.97	5.16	6.97	0.36
p,p'-DDD	7.79	8.06	9.21	0.15
Sulfato endosulfán	8.38	8.37	10.04	0.24
γ-HCH	7.68 ^a	7.38 ^a	8.9 ^b	0.05

Medianas con diferente letra indica diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Prueba de Kruskal-Wallis. Concentración del plaguicida ng/mL.

Relación de los niveles de OCPs en suero con el tiempo de exposición

La concentración de todos los OCPs se incrementó en cuanto más tiempo de exposición tengan los fumigadores, a excepción de sulfato endosulfán puesto que con dicho plaguicida mostró, que conforme aumentó el tiempo de exposición, la concentración del plaguicida disminuyó. En los fumigadores con menos de diez años de exposición al HCB se detectó una concentración de 7.64 ng/mL, sin embargo, en los fumigadores con tiempo de exposición mayor a 10 años se detectó una concentración de 14.5 ng/mL. Los metabolitos de HCH (β-HCH y γ-HCH) fueron detectados en concentraciones diferentes entre todos los grupos. El plaguicida p,p'-DDE fue el que mostró la concentración más alta en fumigadores con más de diez años de exposición (29.16 ng/mL) esto debido a que es uno de los metabolitos más persistentes (Tabla 5).

Tabla 5. Comparación de las concentraciones de los OCPs con el tiempo de exposición de los fumigadores.

Plaguicida	Tiempo de exposición (años)			<i>p</i>
	<5 (n=21)	6-10 (n=18)	>10 (n=10)	
HCB	7.44 ^a	7.64 ^a	14.5 ^b	0.025
β-HCH	10.21 ^a	14.26 ^a	23.49 ^b	0.009
p,p'-DDE	11.09 ^a	16.43 ^b	29.16 ^c	0.001
o,p'-DDT	10.52	10.78	12.79	0.281
p,p'-DDT	13.7	18.54	14.51	0.072
p,p'-DDD	7.655	7.965	13.0	0.114
Sulfato endosulfán	8.72	8.54	7.97	0.376
γ-HCH	7.6 ^a	7.22 ^a	8.64 ^b	0.012

Medianas con diferente letra indica diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Prueba de Kruskal-Wallis. Concentración del plaguicida ng/mL.

Relación de los niveles de OCPs en suero de fumigadores con la edad

La concentración de todos los plaguicidas organoclorados estudiados aumentó conforme aumentó la edad de los fumigadores, a excepción del sulfato endosulfán puesto que conforme aumentó la edad del fumigador, la concentración del plaguicida disminuyó. Por otro lado, los metabolitos de HCH (β-HCH y γ-HCH) mostraron concentraciones diferentes entre todos los grupos de edad. Los plaguicidas β-HCH y p,p'-DDE en fumigadores con menos de 35 años la mediana detectada fue de 10.21 y 11.09 respectivamente; sin embargo, en fumigadores mayores de 45 años se detectó una mediana de 23.45 y 25.84, para los mismos plaguicidas. Estos datos indican que la concentración de OCPs aumenta dos veces más en personas con edad mayor a 45 años (Tabla 7).

Tabla 7. Comparación de las concentraciones de los OCPs con la edad de los fumigadores.

Plaguicida	Rangos de edad (años)			<i>p</i>
	<35 (n = 21)	36-45 (n = 15)	>45 (n = 13)	
HCB	7.44	7.78	10.08	0.12
β-HCH	10.21 ^a	11.3 ^a	23.45 ^b	0.003
p,p' DDE	11.09 ^a	16.11 ^b	25.84 ^c	0.001
o,p' DDT	10.52	10.8	11.02	0.53
p,p' DDT	13.7	18.54	15.67	0.07
p,p' DDD	7.84 ^a	8.06 ^a	12.95 ^b	0.02
Sulfato endosulfan	8.98	8.38	7.96	0.49
γ-HCH	7.64 ^a	7.35 ^a	8.16 ^b	0.04

Medianas con diferente letra indica diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Prueba de Kruskal-Wallis. Concentración del plaguicida ng/mL.

Relación de los niveles de OCPs en suero con el índice de masa corporal

De acuerdo con la toxicocinética de los OCPs, el volumen corporal favorece el incremento de la vida media de los OCPs, debido a la alta afinidad por el tejido graso (Jandacek y Tso 2001). Estudios previos en población adulta, reportaron una asociación positiva entre el IMC y los niveles séricos de OCPs (Lee *et al.* 2007; Cao *et al.*, 2011). Además, el IMC está relacionado con el contenido de lípidos en el cuerpo humano, de esta manera el tejido graso actúa como un reservorio de OCPs y esto de acuerdo al tipo de plaguicida y a su coeficiente de partición (K_{ow}) son liberados a circulación (Genuis *et al.*, 2016). Otro factor que influye sobre el IMC es la ingesta de alimentos, y es posible que una mayor ingesta dietética contribuye a una mayor exposición a los OCPs (Kim *et al.*, 2017).

De acuerdo a lo anterior, al agrupar la población de estudio con base al IMC, en individuos con peso normal, sobrepeso y obesidad, se observó que las concentraciones de OCPs están relacionadas con el IMC de los fumigadores, encontrándose que los fumigadores con normo peso fueron los que presentaron concentraciones menores de OCPs en comparación con los grupos con sobrepeso y obesidad, en especial el β-HCH y el sulfato endosulfán que fueron los metabolitos con diferencias significativas entre las categorías (Tabla 6).

Tabla 6. Comparación de las concentraciones de los OCPs con el índice de masa corporal de los fumigadores.

	IMC			<i>p</i>
	Normopeso (n=11)	Sobrepeso (n=14)	Obesidad (n=24)	
HCB	7.3	8.2	7.64	0.64
β-HCH	9.85 ^a	11.3 ^a	20.72 ^b	0.05
p,p'-DDE	15.41	17.49	16.4	0.60
o,p'-DDT	10.23	10.67	11.55	0.12
p,p'-DDT	13.72	16.77	15.63	0.68
p,p'-DDD	7.25	8.06	8.96	0.11
Sulfato endosulfán	7.93 ^a	8.32 ^a	9.94 ^b	0.05
γ-HCH	7.64	7.71	7.65	0.97

Medianas con diferente letra indica diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Prueba de Kruskal-Wallis. Concentración del plaguicida ng/mL.

Discusión

El objetivo de la validación de un procedimiento analítico para la determinación de residuos de plaguicidas organoclorados, radica en desarrollar una metodología que permita conocer la concentración de estos plaguicidas en suero humano, dada la relación que hay entre lo que se absorbe y lo que se elimina en el organismo y de acuerdo a la persistencia y bioacumulación de estos plaguicidas. En el presente trabajo, los parámetros analíticos como LOD, LOQ, precisión, linealidad y exactitud fueron esenciales para la selección de una metodología confiable para evaluar la determinación de OCPs en suero humano. La metodología aplicada para extracción en fase sólida, purificación y cuantificación de OCPs en suero de fumigadores permitió obtener porcentajes de recuperación entre 70 a 120%, coeficientes de variación menores al 20%, LOD en un rango de 0.085 a 2.275 ng/mL y el LOQ de 0.255 a 6.827 ng/mL. Según el plaguicida determinado, las curvas de calibración fueron preparadas con concentraciones de 5 ng/mL a 200 ng/mL para los nueve plaguicidas incluidos en este estudio y una concentración fija de 50 ng/mL para los estándares internos. El efecto de la matriz sobre la determinación de los OCPs fue evaluado mediante curvas de calibración y estándares tanto en hexano como en extractos de suero. Los cromatogramas obtenidos mostraron picos bien definidos y con líneas base poco fluctuantes, a pesar de usar un volumen pequeño de suero sanguíneo (200 µL). Los resultados de este trabajo son

similares a los reportados en estudios anteriores, en los cuales se determinaron las concentraciones de OCPs en diferentes muestras biológicas como suero, tejido adiposo y leche materna humana, usando un sistema de extracción y purificación de OCPs en fase sólida (Jiménez *et al.*, 2006; Fernández *et al.*, 2012; Matuszak *et al.*, 2016).

La persistencia de los plaguicidas organoclorados en fluidos biológicos hace que estos químicos sean detectables en diferentes matrices, aún después de varios años de haber sido restringidos o prohibidos (Coleman *et al.*, 2008). Los resultados reportados aquí, corresponden a una población de fumigadores urbanos quienes refirieron tener un promedio de 8.5 años de exposición a plaguicidas. El 59.2% reportó que usa algún equipo de protección personal al manipular los plaguicidas; resultados similares reportó Juárez-Quezada (2015) quien realizó un estudio en 53 fumigadores del sexo masculino, de estos el 75.9% refirió utilizar de 1 a 2 implementos de seguridad, lo que sigue siendo insuficiente para proteger la salud del trabajador según la NOM-017-STPS-2017.

El método de extracción fue aplicado en este estudio para determinar el nivel de exposición a nueve residuos de OCPs en suero de 49 fumigadores, donde se observó una relación entre concentraciones de OCPs con el tiempo de exposición, índice de masa corporal y la edad de los fumigadores.

Los resultados obtenidos se compararon con otros estudios realizados en diferentes regiones de México que tenían aplicaciones históricas de estos plaguicidas, las concentraciones de p,p'-DDT; en el estado de Yucatán 210 ng/mL (Rodas *et al.*, 2008) en Veracruz 460 ng/mL (Waliszewski *et al.*, 2009) estas concentraciones están por arriba de la concentración encontrada en este trabajo (15.51 ng/mL); sin embargo, en San Luis Potosí, López *et al.*, 2006 reportaron una concentración media de 18 ng/mL, resultado similar a lo encontrado en este trabajo. Todas las muestras analizadas contienen p,p'-DDE, este metabolito persistente se ha reportado que puede permanecer hasta 20 años en diferentes partes del cuerpo humano, en este trabajo se encontró una concentración mediana de 16.05 ng/mL, con un valor máximo de 84.5 ng/mL, este dato es consistente con informes mundiales que indican que del 90-100% de la población global tienen concentraciones detectables de p,p'-DDE (Botella *et al.*, 2004; Cerrillo *et al.*, 2005; Khanjani y Sim, 2006; Thomas *et al.* 2006; Mueller *et al.*, 2008;

Waliszewski *et al.*, 2012; Koureas *et al.*, 2016) y en el estado de Guerrero, Chávez-Almazán *et al.*, 2018 reportó concentraciones de OCPs en muestras de leche materna donde las concentraciones más altas fueron de p,p'-DDE y p,p'-DDT en la región Costa Chica. El sulfato endosulfán y metoxicloro se detectaron con menor frecuencia y concentración, esto se relaciona a una menor liposolubilidad (Ruíz-Suárez *et al.*, 2014). Por otro lado, el o,p'-DDT y p,p'-DDT fueron detectados en el 83.6 y 85.7% de la población, respectivamente, lo que indica que hay una exposición reciente al DDT, resultados similares son reportados por Jiménez *et al.*, 2006.

Los fumigadores presentaron diferentes niveles de nueve OCPs, esto demuestra que de manera ocupacional estuvieron expuestos y siguen expuestos de manera ambiental a concentraciones bajas de dichos xenobióticos (Berry, 1992; National Research Council, 1993; Whitmore *et al.*, 1994).

Una tendencia de asociación es encontrada en el presente trabajo, donde el IMC se asoció significativamente con las concentraciones séricas de β -HCH y sulfato endosulfan, resultados similares obtuvo Carrizo *et al.*, (2006), otro estudio realizado en mujeres de España reportó que en mujeres con sobrepeso presentaban niveles altos de OCPs y en particular el β -HCH (Ibarluzea *et al.*, 2011). También se ha descrito una correlación positiva entre los niveles de p,p'-DDE con el IMC (Koepke *et al.*, 2004; Glynn *et al.*, 2007). Además, debido a su lipofiliidad, los OCPs tienden a acumularse en los tejidos grasos, lo que explica la asociación positiva observada entre estos compuestos y el IMC; no obstante, existen reportes de correlación negativa que mencionan que existe un efecto de dilución potencial de los OCPs en el tejido graso. Den Hond *et al.*, en el 2009, no encontraron relación entre los niveles plasmáticos de plaguicidas y el IMC. Lo anterior explica parcialmente por qué los niveles elevados de OCPs se correlacionan de manera inversa con el IMC (Porta *et al.*, 2012; Arrebola *et al.*, 2014).

La comparación de las concentraciones de OCPs con la edad de los fumigadores mostró diferencias entre las medianas a excepción del endosulfan sulfato que mostró una relación inversa. La asociación entre la concentración de HCB, p,p'-DDE, o,p'-DDT y p,p'-DDT y la edad de los fumigadores fue similar a lo reportado por Koureas *et al.*, (2016), quienes

reportaron una relación significativa de los niveles de p, p'-DDE y HCB con la edad en población voluntaria. Así mismo, en un estudio realizado por Ruíz-Suárez *et al.*, (2014), reportaron una asociación entre la concentración de p,p'-DDE con la edad en una población de agricultores.

El aumento de los niveles de p,p'-DDE asociado con la edad se ha observado en otros estudios que evalúan los cambios temporales en los niveles séricos de OCPs (Schettgen *et al.*, 2011; Thomas *et al.*, 2017). Esta asociación podría estar relacionada con un período más prolongado de exposición y la dieta (Barr *et al.*, 2006; Carrizo *et al.*, 2006). Con respecto al sulfato endosulfán, la disminución de los niveles séricos encontrados puede explicarse por su baja lipofilia que contribuye a una mayor eliminación del cuerpo en comparación con otros OCPs como el p,p'-DDE. Estas características dan como resultado una persistencia más corta en el medio ambiente y una menor acumulación en humanos (Avivar *et al.*, 2007).

Los resultados revelan una contaminación ambiental por OCPs y proporcionan una base fundamental con relación a sus posibles implicaciones en la salud de los fumigadores urbanos. Esta información también es de utilidad para que los individuos y las instituciones encargadas del cuidado de la salud y el medio ambiente, puedan emplear medidas de protección, planear y ejecutar acciones con el fin de disminuir la exposición a estos plaguicidas.

Conclusión

Debido a la persistencia de los OCPs, aunque estos fueron aplicados en décadas pasadas, aún están presentes en el ambiente y en diversas matrices biológicas como el suero de fumigadores. La metodología aplicada en este trabajo permitió identificar nueve residuos de plaguicidas organoclorados con altos porcentajes de recuperación, linealidad, precisión y exactitud dentro del intervalo de concentraciones esperadas en muestras de suero de fumigadores. Este trabajo demuestra el grado de contaminación existente en personas ocupacionalmente expuestas y la relación con el tiempo de exposición, la edad y el IMC, como resultado de la aplicación de estos compuestos orgánicos persistentes en el pasado, así como el mal uso y manejo de los OCPs.

Referencias

- Ahouangninou C. (2011). Évaluation des risques sanitaires et environnementaux des pratiques phytosanitaires des producteurs maraîchers dans la commune rurale de ToriBossito (Sud-Bénin). *Cah. Agric.* 20(3), 216–22.
- Albert, L. (2005). Panorama de los plaguicidas en México. *Rev. Toxicol.* 8, 1-17.
- AOAC. (1999). Guidelines for single-laboratory validation of analytical methods for trace level concentrations of organic chemicals.
- Arrebola, J.P., Ocana-Riola, R., Arrebola-Moreno, A.L., Fernández-Rodríguez, M., Martín-Olmedo, P., Fernández, M.F., Olea, N. (2014). Associations of accumulated exposure to persistent organic pollutants with serum lipids and obesity in an adult cohort from Southern Spain. *Environ. Pollut.* 195, 9-15.
- ATSDR (2002). Toxicological profile for DDT, DDE, and DDD.
- ATSDR (2005). Toxicological profile for alpha-, beta-, gamma-, and delta-hexachlorocyclohexane.
- Avivar, C., Camino, F., Delgado, M., Gómez, C., Guillén, J., Hernández, A.F. (2007). Respuesta ante las intoxicaciones agudas por plaguicidas: manual para el sanitario y vigilancia epidemiológica. Consejería de Salud, Junta de Andalucía. Sevilla.
- Barr, D.B., Weihe, P., Davis, M.D., Needham, L.L., Grandjean, P. (2006). Serum polychlorinated biphenyl and organochlorine insecticide concentrations in a Faroe birth cohort. *Chemosphere* 62, 1167-1182.
- Berry, M.R. (1992). Strategy for a dietary exposure research program. *J. Exp. Anal. Environ. Epidemiol.* 1, 97-110.
- Botella, B., Crespo, J., Rivas, A., Cerrillo, I., Olea-Serrano M.F., Olea, N. (2004). Exposure of women to organochlorine pesticides in Southern Spain. *Environ Res.* 96(1), 34-40.
- Cao, L.L., Yan, C.H., Yu, X.D., Tian, Y., Zhao, L., Liu, J., Shen, X. (2011) Relationship between serum concentrations of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides and dietary habits of pregnant women in Shanghai. *Sci Total Environ* 409, 2997-3002

- Carrizo, D., Grimalt, J.O., Ribas-Fito, N., Sunyer, J., Torrent, M. (2006). Physical-chemical and maternal determinants of the accumulation of organochlorine compounds in four year old children. *Environ. Sci. Technol.* 40, 1420-1426.
- Cerrillo, I., Granada, A., López-Espinosa, M.J., Olmos, B., Jiménez, M., Cano, A. (2005). Endosulfan and its metabolites in fertile women, placenta, cord blood, and human milk. *Environ. Res.* 98, 233–9.
- Chávez-Almazán, L.A., Díaz-Ortiz, J., Alarcón-Romero, M., Dávila-Vázquez, G., Saldarriaga-Noreña, H., Waliszewski, S.M. (2014). Organochlorine pesticide levels in breast milk in Guerrero, Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 93 (3), 294-298.
- Chávez-Almazán, L.A., Díaz-Ortiz, J., Saldarriaga-Noreña, H.A., Dávila-Vázquez, G., Santiago-Moreno, A., Rosas-Acevedo, J.L., Sampedro-Rosas M.L., López-Silva, S., Waliszewski, S.M. (2018). Análisis regional de la contaminación por plaguicidas organoclorados en leche humana en Guerrero, México. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 34 (2) 225-235, 2018.
- Coleman, M., Casimiro, S., Hemingway, J., Sharp, X. (2008). Operational impact of DDT reintroduction for malaria control on *Anopheles arabiensis* in Mozambique. *J. Med. Entomol.* 45, 885-890.
- Daley, J.M., Paterson, G., Drouillard, K.G. (2014). Bioamplification as a bioaccumulation mechanism for persistent organic pollutants (POPs) in Wildlife. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 227, 107-154.
- Dalvie, M.A., Africa, A., Solomons, A., London, L., Brouwer, D., Kromhout, H., (2009). Pesticide exposure and blood endosulfan levels after first season spray amongst farm workers in the Western Cape, South Africa. *J. Environ. Sci. Health. B*, 44(3), 271-7
- Den, Hond, E., Govarts, E., Bruckers, L., Schoeters, G. (2009). Determinants of polychlorinated aromatic hydrocarbons in serum in three age classes methodological implications for human biomonitoring. *Environ. Res.* 109, 495-502.
- Dirtu, A.C., Dirinck, E., Malarvannan, G., Neels, H., Van Gaal, L., Jorens, P.G., Covaci, A. (2013). Dynamics of organohalogenated contaminants in human serum from obese individuals during one year of weight loss treatment. *Environ. Sci. Technol.* 47, 12441-12449.

- Fernández, V.C., Pestana, D., Monteiro, R., Faria, G., Meireles, M., Correira-Sá, L. (2012). Optimization and validation of organochlorine compounds in adipose tissue by SPE-gas chromatography, *Biomedical Chromatography*. 26, 1494-1501.
- Gallardo-Díaz, E.G., Borja-Aburto, V.H., Méndez-Galván, J.F., Sánchez-Tejeda, G., Olguín-Bernal, H., Ramírez-Hernández, J.A. (2003). Situación actual de la malaria y el uso del DDT en México.
- Genuis, S. J., Lane, K., Birkholz, D. (2016). Human elimination of organochlorine pesticides: blood, urine, and sweat study. *BioMed Research International*. 2016, 1-10.
- Glynn, A., Aune, M., Darnerud, P.O., Cnattingius, S., Bjerselius, R., Becker, W., Lignell, S. (2007). Determinants of serum concentrations of organochlorine compounds in Swedish pregnant women: a cross-sectional study. *Environ. Health*. 6, 2.
- González-Farías, F., Cisneros-Estrada, X., Fuentes-Ruíz, C., Díaz-González, G., Botello, A. (2002). Pesticides distribution in sediments of a tropical coastal lagoon adjacent to an irrigation district in northwest Mexico. *Environ. Technol*. 23, 1247-1256.
- Herrero-Mercado, M., Waliszewski, S.M., Caba, M., Martínez-Valenzuela, C., Gómez-Arroyo, S., Villalobos-Pietrini, R., Cantú-Martínez, P.C., Hernández-Chalate, F. (2011). Organochlorine pesticide gradient levels among maternal adipose tissue, maternal blood serum and umbilical blood serum. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 86, 289-293.
- Ibarluzea, J., Alvarez-Pedrerol, M., Guxens, M., Marina, L. S., Basterrechea, M., Lertxundi, A., Sunyer, J. (2011). Sociodemographic, reproductive and dietary predictors of organochlorine compounds levels in pregnant women in Spain. *Chemosphere*, 82(1), 114–120.
- Jandacek, R.J., Tso, P. (2001) Factors affecting the storage and excretion of toxic lipophilic xenobiotics. *Lipids* 36, 1289-1305
- Jayaraj, R., Megha, P., Sreedev, P. (2016). Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdiscip. Toxicol*. 9, 90-100.
- Jiménez, T., Campoy, F., Canabate, R., Rivas, V., Cerrillo, G., Mariscal, A., Olea, S. (2006). Organochlorine pesticides in serum and adipose tissue of pregnant women in Southern Spain giving birth by cesarean section. *Sci. Total Environ*. 372, 32-38.

- Juárez-Quezada, L.A. (2015). Niveles de colinesterasa sérica y su relación con los factores de riesgo en fumigadores del área agrícola de Monterrey azucarera lojana en la ciudad de Catamayo. Universidad Nacional de Loja.
- Karmaus, W., Davis, S., Chen, Q., Kuehr, J., Kruse, H. (2003). Atopic manifestations, breast-feeding protection and the adverse effect of DDE. *Pediatr. Perinat. Epidemiol.* 17, 212-20.
- Khan, M., Damalas, C.A. (2015). Farmers' knowledge about common pests and pesticide safety in conventional cotton production in Pakistan. *Crop. Prot.* 77, 45-51.
- Khan M, Mahmood H.Z, Damalas C.A. (2015). Pesticide use and risk perceptions among farmers in the cotton belt of Punjab, Pakistan. *Crop. Prot.* 67, 184-190.
- Khanjani, N., Sim, M.R. (2006). Maternal contamination with dichlorodiphenyltrichloroethane and reproductive outcomes in an Australian population. *Environ. Res.* 101, 373–9.
- Kim, J.T., Kang, J.H., Chang, Y.S., Lee, D.H., Choi, S.D. (2017). Determinants of serum organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl levels in middle-aged Korean adults. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(1), 249–259.
- Koepke, R., Warner, M., Petreas, M., Cabria, A., Danis, R., Hernandez-Avila, M., Eskenazi, B. (2004). Serum DDT and DDE levels in pregnant women of Chiapas, Mexico. *Arch. Environ. Health* 59, 559-565.
- Koureas, M., Karagkouni, F., Rakitskii, V., Hadjichristodoulou, C., Tsatsakis, A., Tsakalof, A. (2016). Serum levels of organochlorine pesticides in the general population of Thessaly, Greece, determined by HS-SPME GC-MS method. *Environmental research*. 148. 318-321. 10.1016/j.envres.2016.04.015.
- Lee S, Dai Q, Zheng W, Gao Y, Blair A, Tessari JD, Tian B, Shu X, Tian Ji B (2007) Association of serum concentration of organochlorine pesticides with dietary intake and other lifestyle factors among urban Chinese women. *Environ. Int.* 33,157-163.
- López, D., Yáñez, L., Athanasiadou, M., Bergman, A., Herrera, C., Díaz F. (2006). Determinación de niveles de DDT, DDE y DDE-MeSO₂ en leche materna y sangre de poblaciones contaminadas por DDT en México. *Acta Toxicol. Argent.* 14, 34-46

- Louis, L.M., Lerro, C.C., Friesen, M.C., Andreotti, G., Koutros, S., Sandler, D.P., Blair, A., Robson, M.G., Freeman, L.E.B. (2017). A prospective study of cancer risk among agricultural health study farm spouses associated with personal use of organochlorine insecticides. *Environ. Health*. 16, 95.
- Loomis, D., Guyton, K., Grosse Y., El Ghissasi, F., Bouvard, V., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Mattock, H., Straif, K. (2015). Carcinogenicity of lindane, DDT, and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Lancet. Oncol.* 16(8), 891-892.
- Lyall, K., Croen, L.A., Sjodin, A., Yoshida, C.K., Zerbo, O., Kharrazi, M., Windham, G. (2017). Polychlorinated biphenyl and organochlorine pesticide concentrations in maternal mid-Pregnancy serum samples: Association with autism spectrum disorder and intellectual disability. *Environ. Health. Perspect.* 125, 474-480.
- Manaca, M.N., Grimalt, J.O., Sunyer, J., Mandomando, I., Gonzalez, R., Sacarlal, J., Dobaño, C., Alonso, P.L., Menendez, C. (2011). Concentration of DDT compounds in breast milk from African women (Manhiça, Mozambique) at the early stages of domestic indoor spraying with this insecticide. *Chemosphere* 85, 307-314.
- Matuszak, M., Minorczyk, M., Góralczyk, K., Hernik, A., Struciński, P., Liszewska, M., Czaja, K., Korcz, W., Łyczewska, M., Ludwicki, J. (2016). Validation of the analytical method for the simultaneous determination of selected polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in human blood serum by gas chromatography with microelectron capture detector. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny.* 67, 113-120.
- Miller, J., Miller, J. (2005). *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*. Pearson: London, pp: 125-127.
- Mnif, W., Hassine, A. I., Bouaziz, A., Bartegi, A., Thomas, O., Roig, B. (2011). Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. *International J. Environ. Research Public Health.* 8(6), 2265-303.
- Moreno-Frias, M., Jiménez-Torres, M., Garrido-Frenich, A., Martínez-Vidal, J.L., Olea-Serrano, M.F., Olea, N. (2004). Determination of organochlorine compounds in human biological samples by GC/MS/MS. *Biomed Chromatography.* 18, 102-111.

- Mrema, E.J., Rubino, F.M., Brambilla, G., Moretto, A., Tsatsakis, A.M., Colosio, C. (2012). Persistent organochlorinated pesticides and mechanisms of their toxicity. *Toxicology*. 307, 74–88.
- Mueller, J.F., Harden, F., Toms, L.M., Symons, R., Furst, P. (2008). Persistent organochlorine pesticides in human milk samples from Australia. *Chemosphere* 70 (4), 712–720.
- National Research Council. (1993). *Pesticides in the diets of infants and children*. Washington, D.C. National Academy Press.
- Peres, F., Moreire, C.J., Rodrigues, M.K., Claudio, L. (2006). Risk perception and communication regarding pesticide use in rural work: a case study in Rio de Janeiro State, Brazil. *Int. J. Occup. Environ. Health* 12(4), 400-7.
- Perez, R.N., Trejo, A., Pérez, M.I., Díaz-Barriga, F., Rocha, A.D., Yañez, E.L. (2007). Organochlorine pesticides exposure in children from the agricultural zone of San Luis Potosí, México. *Epidemiology*: 18.
- Porta, M., Pumarega, J., Gasull, M. (2012). Number of persistent organic pollutants detected at high concentrations in a general population. *Environ. Int.* 44, 106-111.
- Rodas, J.P., Ceja, V., González, R.L., Alvarado, J., Rodríguez, M.E., GoldBouchot, G. (2008). Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls levels in human milk from Chelem, Yucatán, México. *Bull. Environ. Contam. Toxicol* 80:255–259.
- Ruíz-Suárez, L.E., Castro-Chan, R.A., Rivero-Pérez, N.E., Trejo-Acevedo, A., Guillén-Navarro, G.K., Geissen, V., Bello-Mendoza, R. (2014). Levels of organochlorine pesticides in blood plasma from residents of malaria-endemic communities in Chiapas, México. *International J. Environ. Research and Public Health*. 11(10), 10444-60.
- Sagiv, S.K., Nugent, J.K., Brazelton, T.B., Choi, A.L., Tolbert, P.E., Altshul, L.M. (2008). Prenatal organochlorine exposure and measures of behavior in infancy using the Neonatal Behavioral Assessment Scale (NBAS). *Environ. Health. Perspect.* 116(5), 666-73
- Schettgen, T., Gube, M., Alt, A., Fromme, H., Kraus, T. (2011). Pilot study on the exposure of the German general population to non-dioxin-like and dioxin-like PCBs. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 214, 319-325.

- Tanabe, S. (2002). Contamination and toxic effects of persistent endocrine disrupters in marine mammals and birds. *Mar Pollut Bull.* 45, 69–77.
- Thomas, G.O., Wilkinson, M., Hodson, S., Jones, K.C. (2006). Organohalogen chemicals in human blood from the United Kingdom. *Environ Pollut.* 141, 30–41.
- Thomas, A., Toms, L.L., Harden, F.A., Hobson, P., White, N.M., Mengersen, K.L., Mueller, J.F. (2017). Concentrations of organochlorine pesticides in pooled human serum by age and gender. *Environ. Res.* 154, 10-18.
- Waliszewski, S.M., Aguirre, A.A., Infanzon, R.M., Silva, C.S., Siliceo, J. (2001). Organochlorine pesticide levels in maternal adipose tissue, maternal blood serum, umbilical blood serum, and milk from inhabitants of Veracruz, Mexico. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40, 432-438.
- Waliszewski, S.M., Melo-Santiesteban, G., Villalobos-Pietrini, R., Gómez-Arroyo, S., Amador-Muñoz, O., Herrero-Mercado, M., Carvajal, O. (2009). Breast milk excretion kinetic of b-HCH, pp'DDE and pp'DDT. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 83, 869-873.
- Waliszewski, S.M., Caba, M., Herrero-Mercado, M., Saldarriaga-Noreña, H., Meza, E., Zepeda, R., Martínez-Valenzuela, C., Gómez, A., Villalobos, P. (2012). Organochlorine pesticides residues levels in blood serum of inhabitants from Veracruz, Mexico. *Environ. Monit. Assess.* 184, 5613-5621.
- Waliszewski, S.M., Caba, M., Herrero-Mercado, M., Saldarriaga-Noreña, H., Meza, E., Zepeda, R., Martínez-Valenzuela, C., Gómez Arroyo, S., Villalobos Pietrini, R. (2013). Organochlorine pesticide residue levels in blood serum of inhabitants from Veracruz, Mexico. *Environ. Monit. Assess.* 184, 5613-5621.
- Whitmore, R.W., Immerman, F.W., Camann, D.A., Bond, A.E., Lewis, R.G., Schaum, J.L. (1994). Non-occupational exposures to pesticides for residents of two cities. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 26, 47–59.
- Wolff, M.S., Zeleniuch-Jacquotte, A., Dubin, N., Toniolo, P. (2000). Risk of breast cancer and organochlorine exposure. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 9, 271-7.

Material suplementario

Tabla 1. Desempeño del método de extracción y purificación en fase sólida.

Plaguicida	RT (min)	Curva de calibración	R^2	% Recuperación
HCB	10.706	$y = 61.134x - 441.29$	0.99	77.63
β -HCH	11.654	$y = 10.329x - 89.439$	0.99	107.50
p,p'-DDE	19.598	$y = 34.312x - 289.43$	0.98	89.86
o,p'-DDT	21.449	$y = 18.32x - 178.43$	0.99	116.75
p,p'-DDT	23.009	$y = 16.01x - 115.48$	0.99	93.87

RT=tiempo de retención

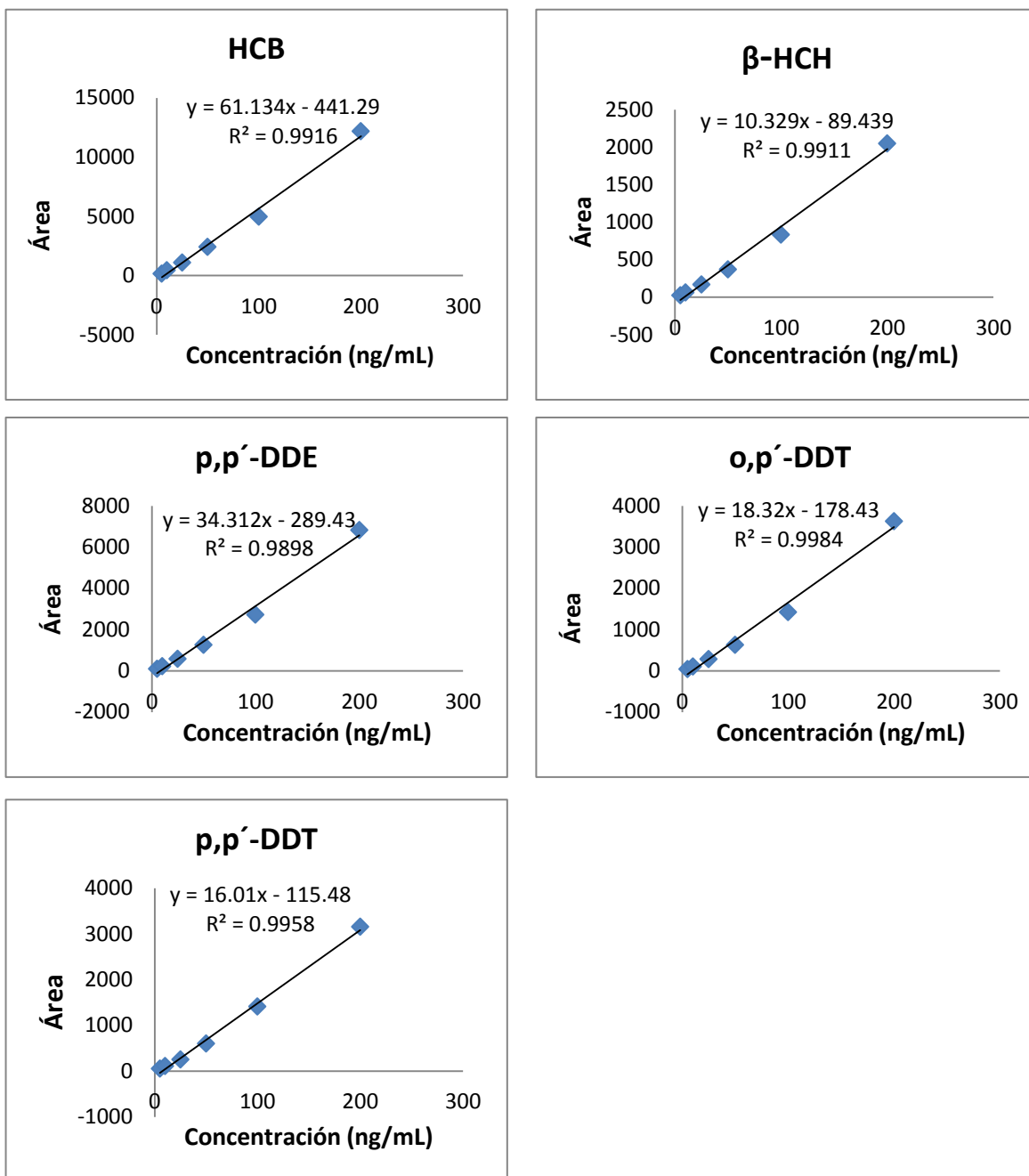


Figura 1. Desempeño del método de extracción y purificación en fase sólida. Curvas de calibración de cada uno de los plaguicidas (HCB, β -HCH, p,p'-DDE, p,p-DDT, o,p-DDT). Concentraciones de 5 a 200 ng/mL.

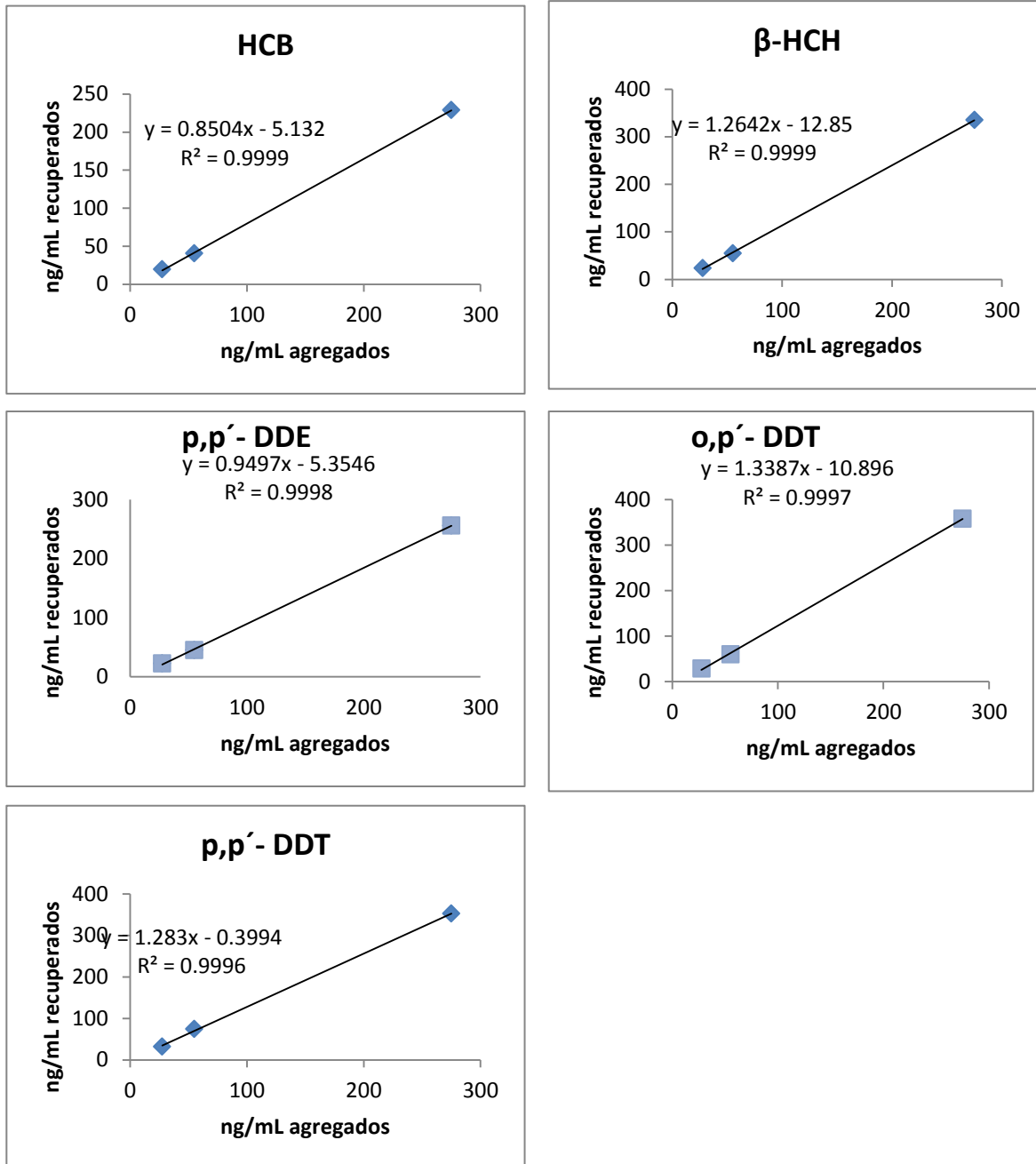


Figura 2. Desempeño del método de cromatografía de gases con detector de captura de electrones. Curvas de calibración de los plaguicidas (HCB, β -HCH, p,p'-DDE, p,p-DDT, o,p-DDT). Concentraciones de 5 a 200 ng/mL.

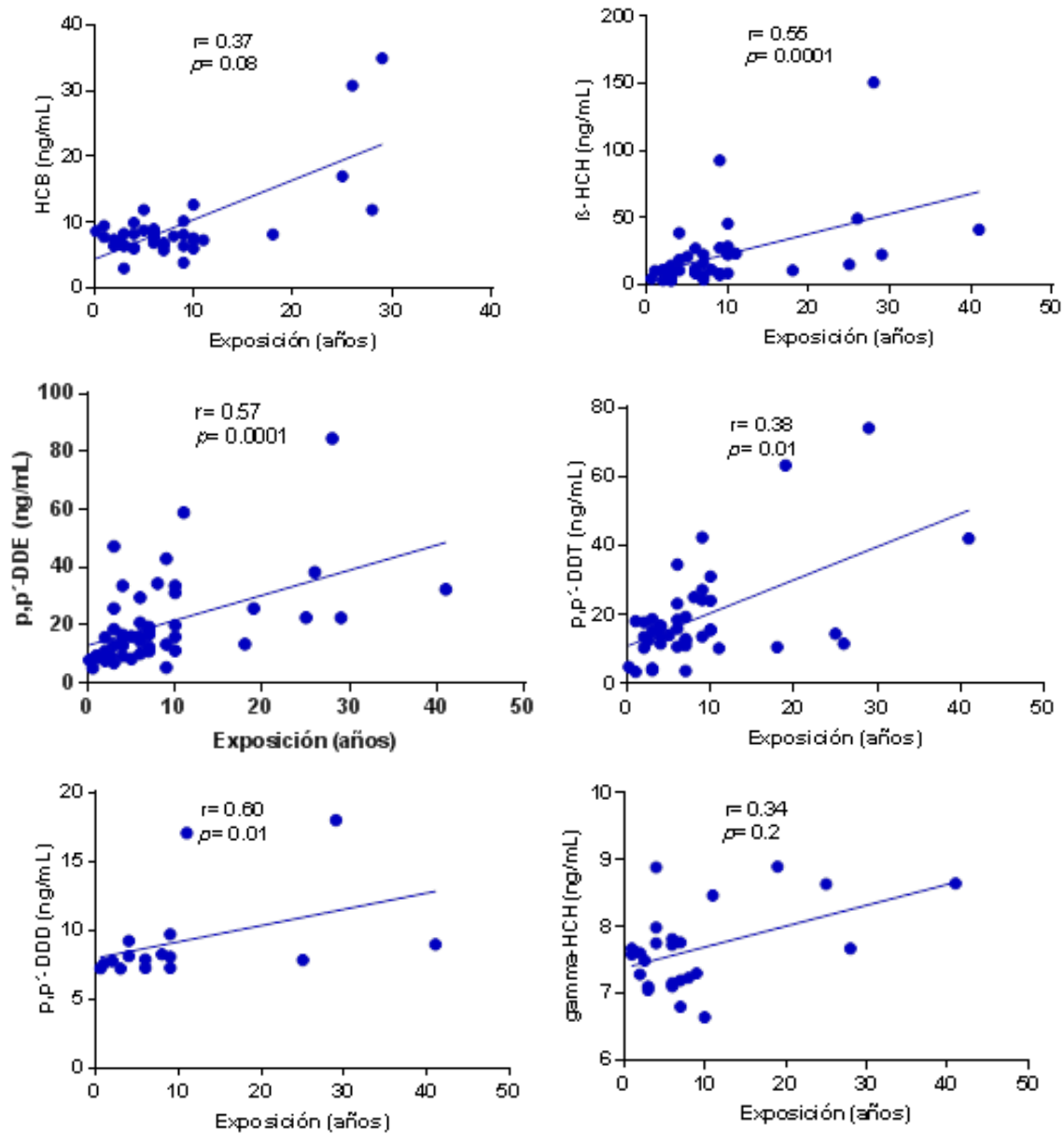


Figura 3. Correlación de las concentraciones de OCPs con el tiempo de exposición. Correlación de Spearman. $p < 0.05$.

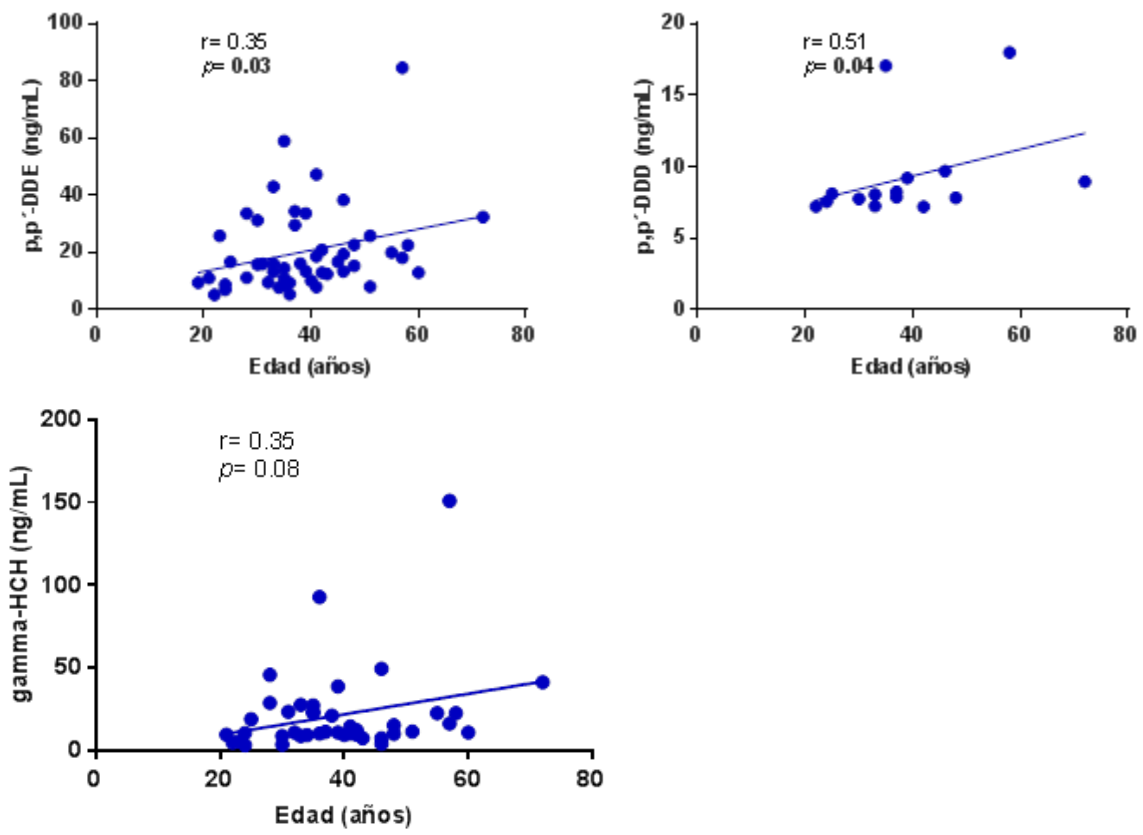


Figura 4. Correlación de las concentraciones de OCPs con la edad. Correlación de Spearman. $p < 0.05$.

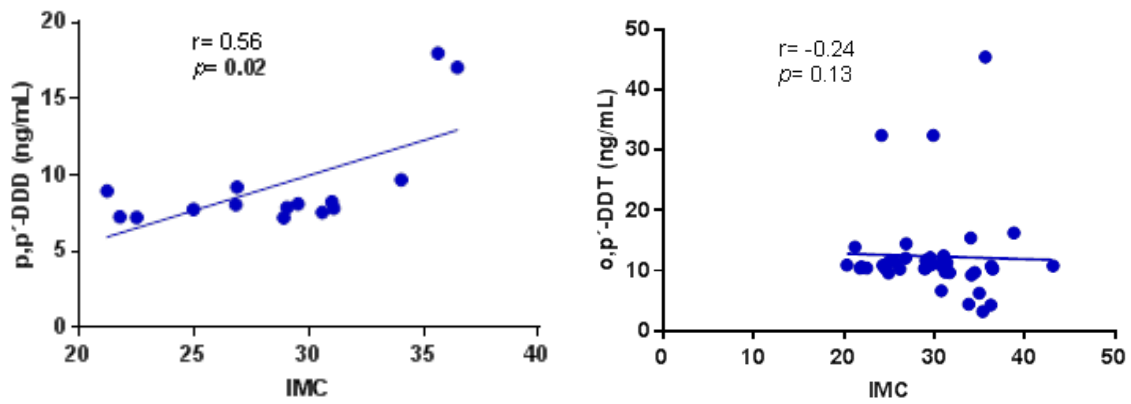


Figura 5. Correlación de las concentraciones de OCPs con el índice de masa corporal. Correlación de Spearman. $p < 0.05$.

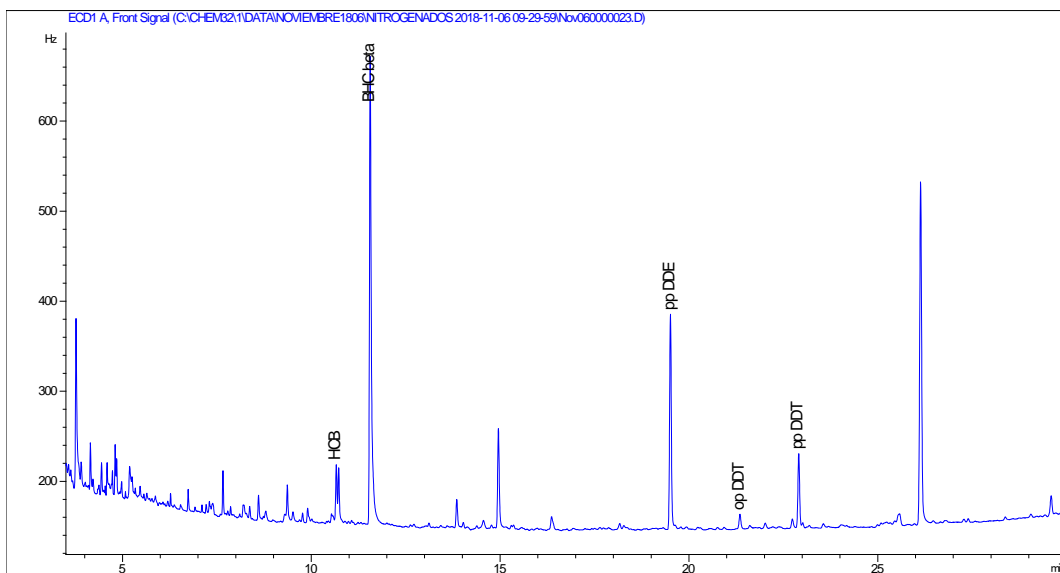


Figura 6. Cromatograma obtenido de una muestra de suero proveniente de un fumigador.