

Determinación de contaminantes orgánicos persistentes en leche de vaca comercializadas en la ciudad de Quito mediante cromatografía de gases acoplada a un detector de captura de electrones

Paola Belen Aleman Michilena, Patricio J. Espinoza-Montero*

Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Escuela de Ciencias Químicas, Avenida 12 de octubre y Roca,

Apartado postal: 17 01 21 84, Quito, Ecuador.

**pespinoza646@puce.edu.ec*

Resumen

En el Ecuador el uso de pesticidas y otros productos químicos organoclorados que podrían ocasionar riesgos considerables a la salud no se encuentra debidamente regulados. Muchos de estos pesticidas ingresan a la cadena alimentaria a través de los alimentos ricos en grasa como la leche que es un producto altamente consumido por los ecuatorianos. Entre los riesgos más comunes que ocasiona su consumo se destacan: el deterioro neurológico, cáncer y malformaciones genéticas.

Es por ello que se ha realizado un estudio en las marcas de leche más consumidas a nivel nacional evaluando si estas contienen compuestos orgánicos persistentes en cantidades peligrosas para la salud.

Para ello se tomaron tres marcas de leche, dos lotes de cada marca y se realizaron tres réplicas de cada muestra. A dichas muestras se les realizó un proceso de extracción líquido-líquido donde se emplearon solventes orgánicos como el acetonitrilo, pentano, éter. Posteriormente se determinó el contenido de grasa de la muestra y se separó la matriz grasa de la misma a través de una columna cromatográfica de permeación de gel con diclorometano y acetonitrilo como fase móvil en proporciones 4:1, si la muestra aún presentó residuos grasos en la matriz se implementó un proceso adicional de Clean-up para eliminar todos

los residuos grasos a través de una columna de florisil con diclorometano y pentano como fase móvil.

Una vez obtenido el extracto se inyectó la muestra a un cromatógrafo de gases Agilent 7890 B acoplado a un detector de captura de electrones el tiempo total de corrida fue de 32 min y se evaluó el porcentaje de recuperación del spike inyectado TCMX, los valores obtenidos de los porcentajes de recuperación representan un rendimiento mayor al 80% con una desviación estándar del 15,02 y un valor de RSD de 18,41% lo que indica que el proceso de extracción es replicable y reproducible.

Se concluyó que el 90% de las muestras no presentan COPs ni PCB, sin embargo en dos muestras se encontró lindano y solo en una muestra se encontró heptacloro epóxido, endosulfansulfato y opDDT en cantidades que no superan los 2 ppb, valores que al compararlos con los del CODEX alimentarius no representan ningún riesgo para la salud.

Palabras clave: Cromatografía μ CD/COPs/PCB/Cromatografía de exclusión por tamaño/Clean-up

1. Introducción

A lo largo de la historia la producción de compuestos orgánicos persistentes (COPs) ha crecido junto con la demanda demográfica, entre los más utilizados están los pesticidas, productos

químicos y aceites dieléctricos para capacitores y transformadores [1]. Aunque su producción se detuvo hace más de 25 años, los seres humanos continúan expuestos a sus efectos tóxicos debido a su resistencia a la descomposición química y biológica, su capacidad de bioacumulación y su larga vida media [2]. Los COPs son solubles en lípidos, son semivolátiles y pueden ser transportados fácilmente por el aire depositándose en el suelo y en el agua [3]. Entre estos compuestos están los bifenilos policlorados (PCBs, por sus siglas en inglés) con aproximadamente 209 congéneres, formados por dos anillos bencénicos y entre 1 a 10 átomos de cloro [4]. Las dibenzodioxinas (PCDD, por sus siglas en inglés) son moléculas formadas por dos anillos bencénicos unidas por dioxano, el número de cloros que se encuentran varía entre 1–8 y constan con 75 congéneres [5]. Los dibenzofuranos policlorados (PCDF, por sus siglas en inglés) cuyos grupos bencílicos se encuentran unidos por un átomo de carbono y uno de oxígeno, poseen aproximadamente 135 congéneres [6]. Estos compuestos son considerados contaminantes por el Codex Alimentarius [7]. Los alimentos constituyen la principal fuente de exposición para el ser humano representando más del 90 %, encontrándose las concentraciones más altas en pescado, los productos lácteos y grasa animal [8].

La leche es una emulsión con aproximadamente 3% de grasa y constituye una de las fuentes principales de ingesta a la cadena trófica de COPs [9]. En California, se han encontrado los congéneres PCB-101, PCB-118 y PCB-138 en muestras de leche de vaca sin procesar [10]. En el Reino Unido se identificaron los congéneres dominantes 118, 153, 158 cuya concentración se encontró en el rango 3,4–16,5 ng g⁻¹ [11]. En Brasil en el estado de Mato grosso se analizaron COPs en leche pasteurizada de la región obteniendo aldrin en un 40% de muestras analizadas, 36% de DDT, 34% de mirex, 34% Endosulfan, 32% clordano, 11% de heptacloro y 11% de dieldrin todos estos en cantidades por encima de los valores de referencia [12].

Por ello desde 2004 entró en vigencia el convenio de Estocolmo del cual forma parte también Ecuador, el cual tiene como objetivo proteger la salud humana y el medio ambiente de los COPs [13].

Las exposiciones fetales y de desarrollo temprano son las más sensibles a estos efectos dando como resultado mal desarrollo del corazón, paladar, retraso en el desarrollo cognitivo, deterioro reproductivo, además de ser cancerígenos [14] [15].

Debido a la necesidad de estudiar los posibles efectos adversos del consumo de leche posiblemente contaminada, en el Ecuador, el Ministerio del Ambiente Agua y Transición Ecológica actualmente se encuentra implementando un plan de monitoreo de COPs en el aire y leche materna [16]. Por ello esta investigación en colaboración con dicha institución desarrollará una metodología que permita la detección y cuantificación de COPs en marcas de leche comercializadas en la ciudad de Quito utilizando cromatografía de gases acoplada a un detector de captura de electrones [17]. La cual posee una sensibilidad a niveles traza para detectar compuestos organoclorados y es ampliamente utilizada en diversos estudios en todo el mundo [18]. Debido a la complejidad de la matriz rica en proteínas y grasa, la preparación de la muestra representa un proceso complejo que comienza con una extracción líquido-líquido utilizando solventes orgánicos como el pentano [19]. Si los lípidos no se eliminan en el proceso al inyectar la muestra nos dará un resultado con una baja sensibilidad, además acortará la vida útil de la columna y requerirá mantenimiento continuo del equipo [20]. Por ello, se realizó un proceso de Clean up en una columna de permeación de geles y en casos necesarios se realizó un proceso de limpieza adicional utilizando una columna de florisil utilizando pentano y diclorometano como fase móvil [21].

2. Materiales y Métodos

2.1 Reactivos

N-pentano (C₅H₁₂) PG II (Alfa Aesar); isooctano (C₈H₁₈ 99%) grado HPLC (Fisher Chemical); Acetonitrilo (CH₃CN) grado HPLC (Fisher Chemical); metanol (CH₃OH) grado HPLC (Fisher Chemical); cloruro de sodio (NaCl 99,8%) (J.T Baker) ; Sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄ 100%) (Fisher Chemical); oxalato de sodio (Na₂C₂O₄, 99,5%) (Fisher Chemical); Éter etílico (C₂ H₅)₂O 98% (Merck); Bio beads SX3 (Biorad Laboratories); etil acetato (C₄H₈O₂ 99,9%) (Fisher Chemical); diclorometano (CH₂Cl₂ 100%) (Fisher Chemical) florisil (Sigma aldrich); TCMX estándar analítico 2,615ppb (Dr Ehrenstorfer); Clordano técnico 3,77ppb (Dr Ehrenstorfer); Endosulfan alfa 6,18 ppb (Dr Ehrenstorfer); Quitozene 2,9 ppb (Dr Ehrenstorfer); Aldrin 3,01 ppb (Dr Ehrenstorfer); Alfa HCH 2,82 ppb (Dr Ehrenstorfer); Beta HCH 2,54 ppb (Dr Ehrenstorfer); Heptacloro 2,8 ppb (Dr Ehrenstorfer); 4,4-DDT 4ppb (Dr Ehrenstorfer); Endosulfan sulfato 2,7ppb (Dr Ehrenstorfer); Hexaclorobenceno 2,9ppb (Dr Ehrenstorfer); Mirex 2,49ppb (Dr Ehrenstorfer); Gamma HCH 4,9 ppb (Dr Ehrenstorfer); Endosulfan beta 2,56ppb (Dr Ehrenstorfer); Endrin 2,5 ppb (Dr Ehrenstorfer); o,p DDT 2,5ppb (Dr Ehrenstorfer); 4,4 DDE 1,5ppb (Sigma Aldrich); Heptacloro epóxido B 2,6ppb (Sigma Aldrich); Cisclordano 2,7 ppb (Sigma Aldrich); Heptacloro epóxido A 2,5 (Supelco); PP-DDD 3,4 ppb (Chem Service); Dieldrin 2,5 ppb (Sigma Aldrich).

2.2 Parte 1 muestreo

Se realizó un muestreo representativo, la toma de la muestra fue instantánea y localizada [22]. Para ello se recolectaron las muestras en el mes de febrero, marzo y abril del año en curso de tres marcas de leche comercializadas en la ciudad de Quito se evaluaron dos lotes por marca y se realizaron tres repeticiones por cada uno [23].

2.3 Parte 2 Preparación de la muestra

Se tomó 20 mL de muestra y se la colocó en un embudo de separación de 250 mL y se le añadió 100 µL de spike TCMX, junto con 5 mL de solución saturada de oxalato de sodio (Na₂C₂O₄, 99,5%), 20 mL de acetonitrilo

(CH₃CN) grado HPLC y finalmente 10 mL de éter etílico (C₂H₅)₂O 98%; todos los reactivos fueron redestilados previamente [24]. Para facilitar el proceso de extracción líquido-líquido se agitó el embudo vigorosamente. Se trasladó la fase acuosa a otro embudo de separación y se le añadió 20 mL de n-pentano (C₅H₁₂) PG II, nuevamente se procedió a la separación de fases, desechando la fase acuosa [25]. Luego se añadió la fase orgánica al primer embudo de separación junto con 10 mL de solución saturada de cloruro de sodio (NaCl 99,8%) y 60 mL de agua destilada, se repitió el proceso de lavado dos veces más, se tomó la fase orgánica en un erlenmeyer y se añadió 30 g de sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄ 100%) dejándolo reposar por 30 minutos y posteriormente se concentró en el rotavapor hasta aproximadamente 5 mL [25] (Figura 1).

Es necesario determinar el contenido de grasa que contiene la muestra de leche para ello se tomó 100 µL de extracto en un papel aluminio y por diferencia de pesos se determinó el contenido de grasa en cada una de las muestras [11]. Para separar los analitos se aplicó la técnica cromatográfica de exclusión por tamaño utilizando una columna permeación de geles rellena de un gel poroso Biobeds SX-3 (Biorad Laboratories). Se utilizó una fase móvil diclorometano (Fisher Chemical) – etilacetato (Fisher Chemical) (4:1) [26]. Se inyectó el extracto de forma manual, descartando los primeros 140 mL posteriormente se recogieron 60 mL en un balón de destilación que fueron nuevamente concentrados en el rotavapor hasta aproximadamente 5 mL a una temperatura de 40 °C y con una presión de 250 mmHg, hasta aproximadamente 5 mL [27]. Posteriormente, fue necesario añadir nitrógeno para evaporar totalmente el solvente [28]. Luego, se preparó una columna pequeña con florisil activado y sulfato de sodio como fase estacionaria y se eluyó la primera fracción con 30 mL de pentano, para la segunda elución se utilizó como fase móvil DCM (CH₂Cl₂ 100%) y pentano (C₅H₁₂) PG II en proporción 1:1, una vez recogidas las dos fracciones fueron concentradas en el rotavapor y para ser inyectados se llevó la muestra a 2 mL con isooctano (C₈H₁₈ 99% [29] (Figura 1).

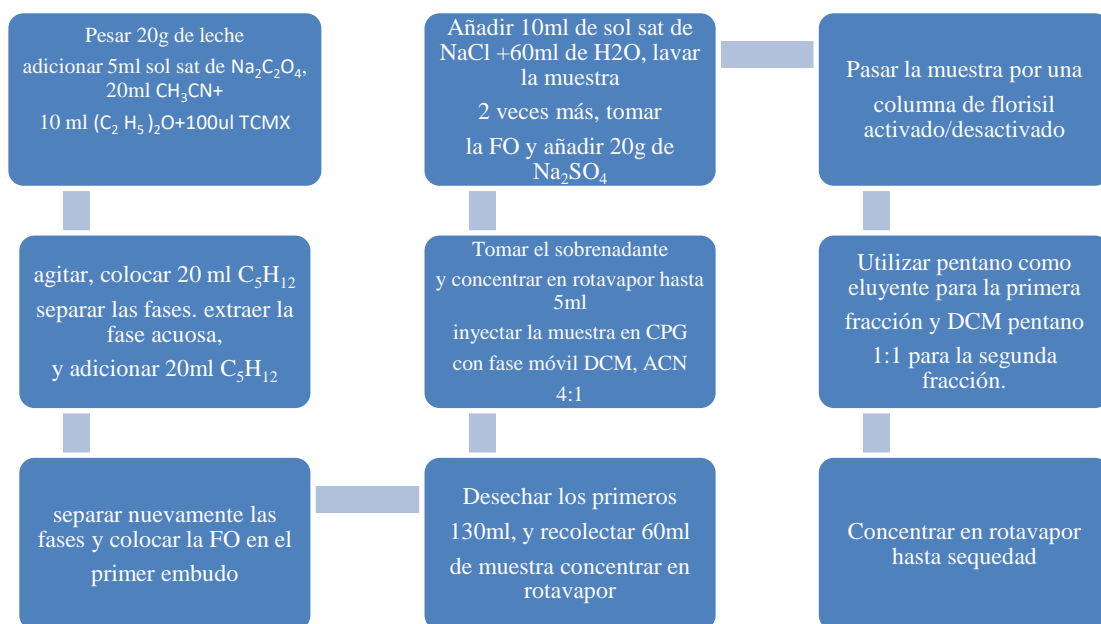


Fig. 1. Diagrama de flujo proceso de extracción y Clean-up de la muestra

2.4 Técnica Analítica

Se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent 7890 B acoplado a un detector de captura de electrones, con una columna HP-5 31m x 250 μ m x 0,25 μ m. Técnica recomendada por el convenio de Estocolmo vigente desde 2004 para determinación de COPs [13]. Se construyó una curva de calibración con estándares de 22 COPs y 7 PCB congéneres. La rampa de temperatura del horno de la columna se inició a partir de 60 °C con un incremento de 20 °C min⁻¹, hasta alcanzar una temperatura de 180°C, un incremento de 5 °C min⁻¹ hasta alcanzar 250 °C y finalmente un incremento de 10 °C min⁻¹ hasta alcanzar 270 °C [30]. El tiempo total de la corrida fue de 32 minutos [4]. El flujo de ingreso de gas a la columna fue de 1ml min⁻¹ a una presión de 12,9 psi [31].

3. Resultados y Discusión

Para elaborar la curva de calibración, se prepararon soluciones de trabajo de varias diluciones en el rango de 0,01–0,05 ng μ L⁻¹ y se inyectaron en el sistema GC- μ CD El LOD y el LQD se determinaron utilizando la relación señal-ruido [32]. La validación del método se realizó mediante una evaluación del rendimiento de la recuperación, en la Tabla 1 se muestran los LOD y LQD para cada uno de los diferentes estándares COPs y PCB [33].

TIEMPO RETENCIÓN (s)	COP	m	b	std	R	LOD ng g ⁻¹ ppb	LQD ng g ⁻¹ ppb
14,186	TCMX	466283,118	146,69546	452,97248	0,99864	0,20400529	0,68001762
15,622	HCB	615835,184	-236,70745	818,83369	0,99743	0,27922256	0,93074186
16,46	Alfa HCH	605071,479	-518,95813	795,61391	0,9975	0,27613088	0,92043627
17,086	PCNB	484572,367	-221,99377	630,58699	0,99754	0,27327862	0,91092873
17,703	Lindano	441649,979	453,61219	545,90893	0,999944	0,25957405	0,86524684
18,879	Heptacoloro	407623,305	-15,67891	327,62379	0,99937	0,16878573	0,56261909
19,642	Beta HCH	179535,406	113,42109	155,66081	0,99895	0,18207423	0,60691409
19,888	Aldrin	418876,408	-9,1675	286,77117	0,99953	0,1437702	0,47923401
21,852	Heptacoloro epóxido B	262629,169	8,66086	196,9641	0,99916	0,15749378	0,52497927
21,918	Heptacoloro epóxido A	336629,63	70,55556	129,58549	0,99941	0,08083945	0,26946482
22,339	opDDE	201602,881	-30,8107	78,95629	0,99452	0,08224496	0,27414987
22,945	Alfa endosulfan	303876,703	33,58221	307,38412	0,99904	0,21242387	0,70807957
23,173	Cisclordano	425067,901	158,02469	292,24627	0,99932	0,14438097	0,48126991
23,541	ppDDE	267999,9	95,40218	213,68309	0,99934	0,1674383	0,55812768
24,093	Dieldrin	272395,473	117,79835	221,03094	0,99905	0,17040113	0,56800378
24,846	Endrin	283862,053	47,87173	232,07549	0,99904	0,17168851	0,57229503
25,197	opDDT	120083,803	-210,911	215,67587	0,99523	0,37716937	1,25723125
26,109	ppDDD	225612,012	143,81353	279,76744	0,99798	0,26040795	0,86802651
26,35	Beta endosulfan	307587,686	-287,505663	323,52873	0,99846	0,22088346	0,73627821
27,12	ppDDT	96988,2459	-426,56502	416,9456	0,98976	0,90277513	3,00925042
27,946	Endrin aldehído	62121,6665	-9,47804	58,12784	0,9987	0,19649902	0,65499672
29,146	Endosulfan sulfato	222498,732	164,88232	245,18901	0,99848	0,23141567	0,77138555

Tabla 1. Límites de detección y cuantificación COPs

TIEMPO RETENCIÓN (s)	PCB	m	b	std	R	LOD ng/g ppb	LQD ng/g ppb
18,433	28	1011373,94	673,68771	1256,07232	0,99723	0,26080876	0,86936255
19,554	52	102999,446	782,34217	871,7913	0,99871	1,77744813	5,92482709
20,654	101	136922,122	965,9599	1065,61746	0,9989	1,63435728	5,44785761
22,363	118	122553,682	789,85602	913,90196	0,99899	1,56600282	5,22000941
24,697	153	236924,916	1397,1022	1809,45293	0,99895	1,60382083	5,34606943
25,355	138	159999,524	943,80168	1160,6552	0,99905	1,52336448	5,07788161
26,733	180	161533,361	915,57671	1337,82211	0,99876	1,73922366	5,7974122

Tabla 2. Límites de detección y cuantificación PCBs

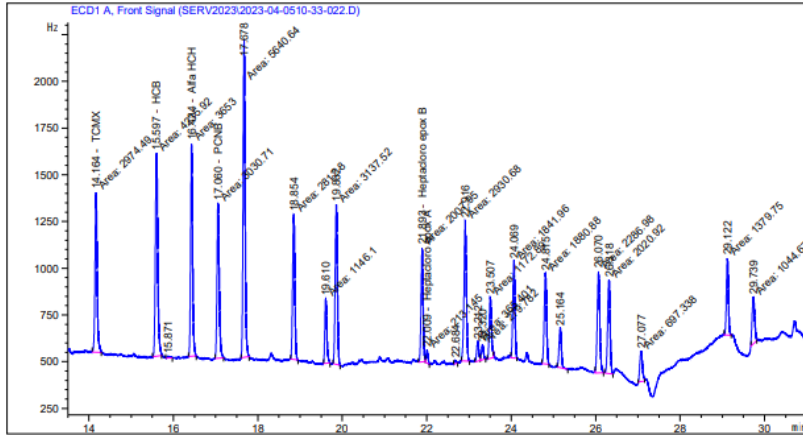


Fig. 1. Cromatograma Mix COPs

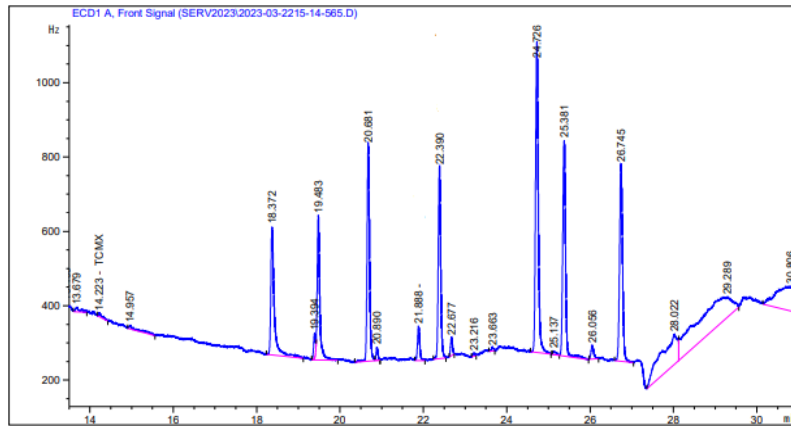


Fig. 2. Cromatograma Mix PCBs

Adicionalmente, se determinó el contenido de grasa que contienen las muestras de leche con un valor promedio de 2,5% generalmente la leche entera pasteurizada tiene un valor de 3% [34]. Además se calculó el rendimiento del proceso para cada muestra obteniendo valores superiores al 70% con excepción de la muestra NL2C con un valor de 55% sin embargo este valor obtenido se

encuentra dentro de los límites de validación para análisis de residuos de pesticidas [35] [31]. Se obtuvo un promedio de rendimiento de las muestras de 81,56% una desviación estándar 15,02 y un valor de RSD de 18,41% [31]. Esto nos indica que el proceso de extracción es adecuado para determinar la presencia de compuestos organoclorados en matrices grasas.

Muestra	% Recuperación	% Grasa
VL1A	79,8850707	2,49
VL1B	85,6181109	2,49
VL1C	73,4765507	2,5
VL2A	82,0104474	2,42
VL2B	76,0871893	2,5
VL2C	72,9318088	2,6
NL1A	75,453522	2,95
NL1B	72,5239618	2,41
NL1C	115,410539	2,43
NL2A	84,2485201	3
NL2B	83,0651855	2,52
NL2C	55,1835564	2,56
RL1A	113,313966	2,68
RL1B	74,16413	2,4
RL1C	101,816352	2,73
RL2A	74,7295908	2,61
RL2B	69,3507457	2,64
RL2C	78,833652	2,4

Tabla 3. Determinación del contenido de grasa y porcentaje de recuperación de cada una de las muestras

Según la FAO en la leche de vaca las grasas constituyen alrededor de un 3% del contenido sólido de la leche pero este varía según la raza del bovino [29]. También se realizó un análisis de grasa en una muestra de leche sin procesar de la parroquia de Nono en la ciudad de Quito en donde se obtuvo un valor de 7,15% estudios han

indicado que el porcentaje de grasa de muestras de leche sin procesar es de aproximadamente 7,5% [36]. Ambos resultados nos indican valores con una aproximación mayor al 80%. Tras procesar la muestra de la leche cruda de vaca se obtuvo el cromatograma de la Figura 3:

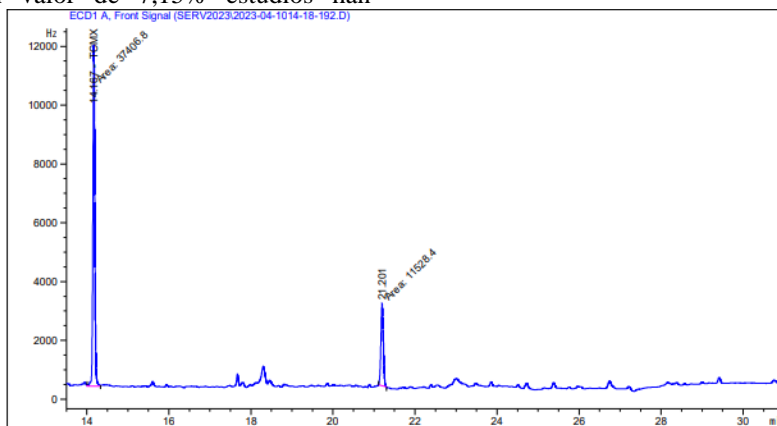


Fig. 3. Cromatograma leche cruda parroquia Nono

En donde se observan dos picos de alta intensidad el primero es del spike TCMX que eluye en minuto 14, 183 [37]. Este se inyecta como control para verificar el rendimiento en el proceso de extracción y el segundo que eluye en el minuto 21,201 el cual no corresponde a ninguno de los

tiempos de retención de los estándares de COPs y PCB, dado dicho resultado se requiere otro análisis para su confirmación. El porcentaje de recuperación del TCMX fue del 79,85% [32]. Al analizar la muestra VL1A ninguna reportó COPs ni PCB sin embargo en el cromatograma de

la muestra A se observó un pico con un tiempo de retención de 21,232 min el cual no coincide con ningún estándar lo cual indica que puede existir

otro tipo de contaminante que no provengan necesariamente de la leche, el porcentaje de recuperación fue de 79%.

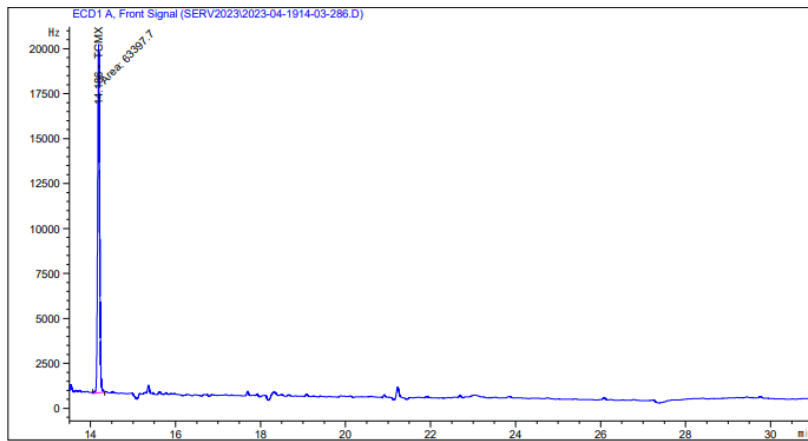


Fig. 4 Cromatograma muestra VL1A

La muestra VL1B tampoco reportó contaminantes en general la mayoría de las muestras no reportaron contaminantes [5]. Con

excepción de las muestras NL1B y RL2B que evidencian los resultados de la Tabla 4:

MUESTRA	CONTAMINANTE	CONCENTRACIÓN ng/g
NL1B	Lindano	0,6215
RL2B	Lindano	0,552
RL2B	Heptaclo epóxido B	0,4974
RL2B	opDDT	1,98
RL2B	Endosulfan	1,65

Tabla 4. Resultados muestras NL2B y RL2B

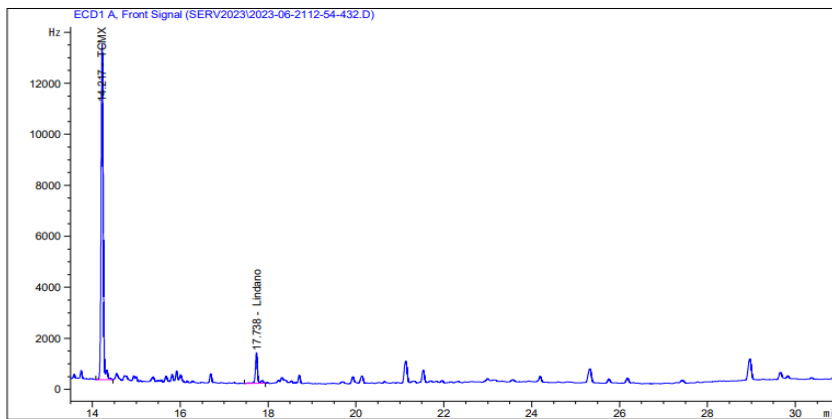


Fig. 5. Cromatograma muestra NL1B

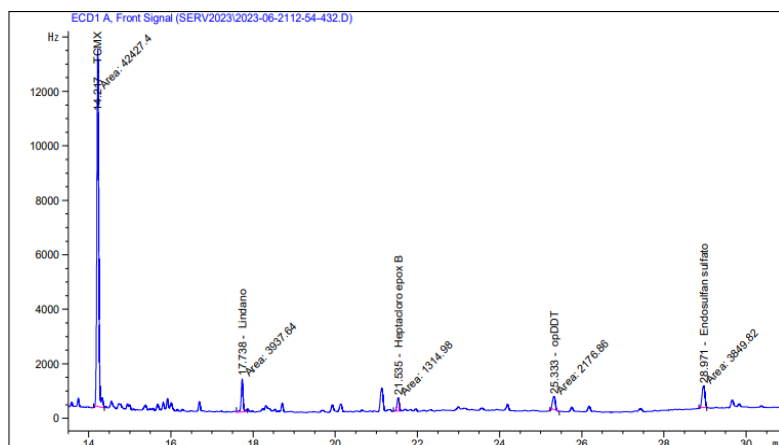


Fig. 6. Cromatograma muestra RL2B

Los valores obtenidos en la muestra NL1B indican la presencia de lindano con un valor de $0,6215 \text{ ng g}^{-1}$

De igual manera la muestra RL2B también contiene lindano como contaminante con un valor de $0,552 \text{ ng g}^{-1}$ y eluye a un tiempo de retención de $17,738 \text{ min}$ [38]. Además presenta Heptacloro epóxido B cuya concentración es $0,4974 \text{ ng g}^{-1}$ con un tiempo de retención de $21,535 \text{ min}$ [39].

Seguido de opDDT con un valor de concentración

de $1,98 \text{ ng g}^{-1}$ y un tiempo de retención de $25,333 \text{ min}$ [40]. Y endosulfansulfato cuya concentración fue de $1,65 \text{ ng g}^{-1}$ y tiempo de retención de $28,971 \text{ min}$ [41]. Al comparar los valores obtenidos con valores establecidos por el Codex alimentarius podemos observar que las cantidades que se obtuvieron no sobrepasan los valores establecidos [42].

PESTICIDAS ORGANOCLORADOS	LMP ppb de leche
Aldrín y dieldrín	6
heptacloro y heptacloro hepóxido	6
lindano	10
$(\alpha+\beta)$ -HCH	3
DDT y metabolitos	20
Clordano	2

Tabla 5. Límites máximos permitidos de pesticidas organoclorados en leche según CODEX alimentarius en ppb

4. Conclusión

El 90% de las muestras no evidenció ningún contaminante persistente, el rendimiento del proceso de extracción fue de un promedio de 81,5% lo que indica que el método para la extracción y cuantificación es reproducible.

Existieron únicamente dos muestras que evidencian la presencia de COPs cuyas cantidades no representan un peligro potencial para la salud. Esto indica que la leche que se consume en la ciudad de Quito es apta para el consumo y no representa riesgos.

5. Anexos

1.1 Cromatogramas de las muestras

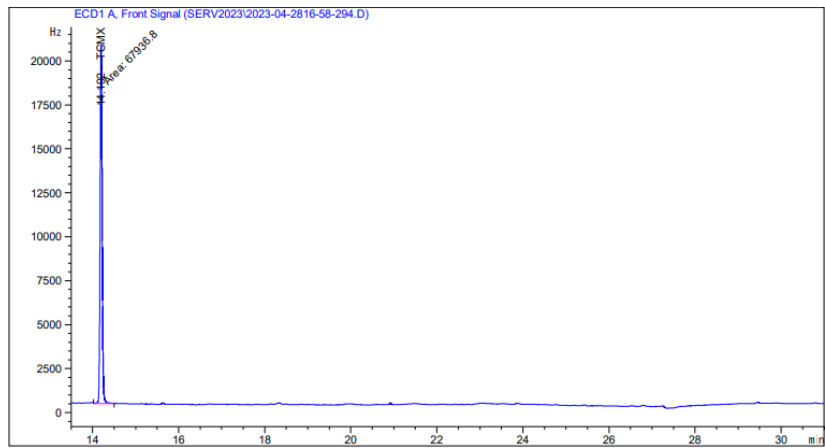


Fig. 7. Cromatograma Muestra V1B

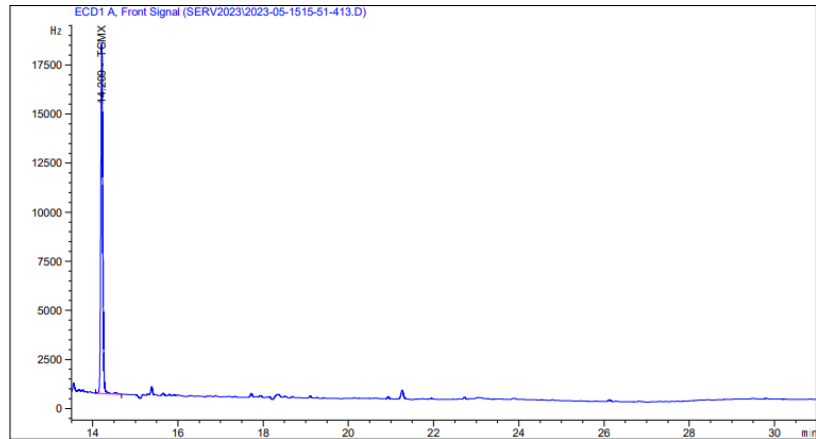


Fig. 8. Cromatograma Muestra VLIC

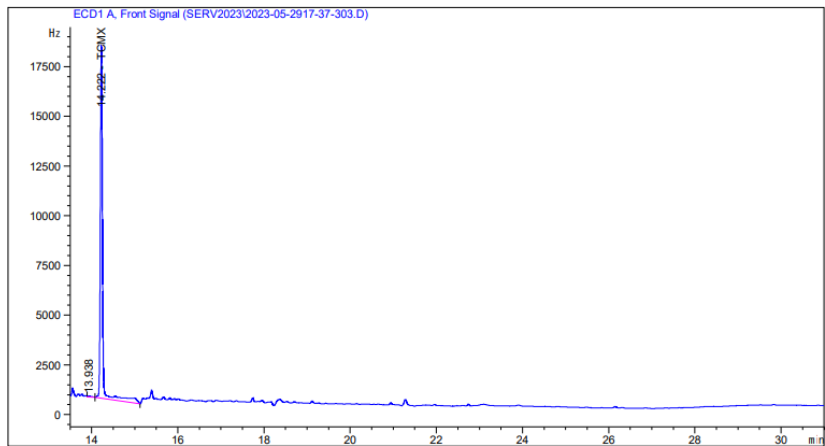


Fig. 9. Cromatograma Muestra VL2A

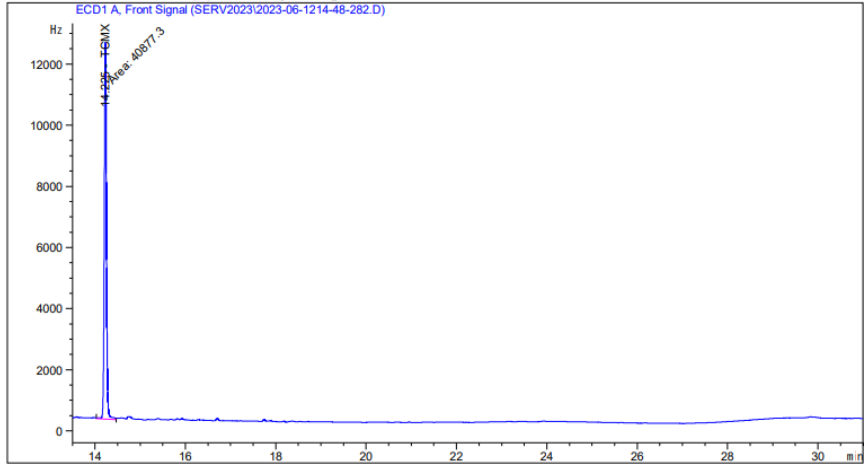


Fig. 10. Cromatograma Muestra VL2B

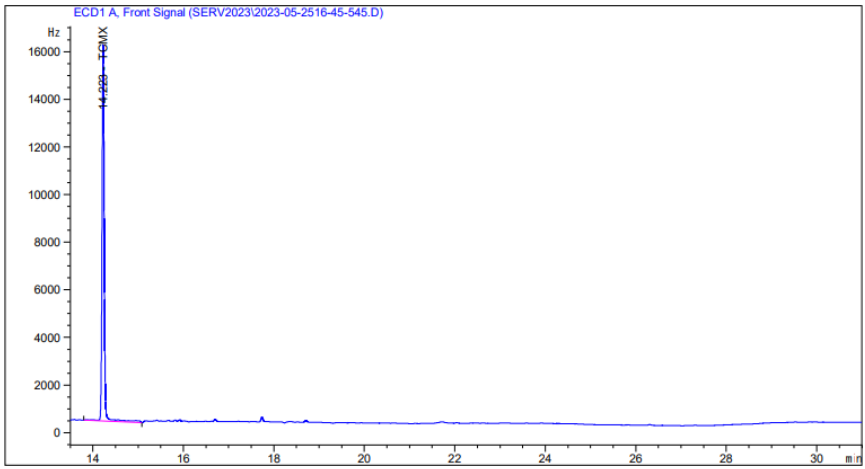


Fig. 11. Cromatograma Muestra VL2C

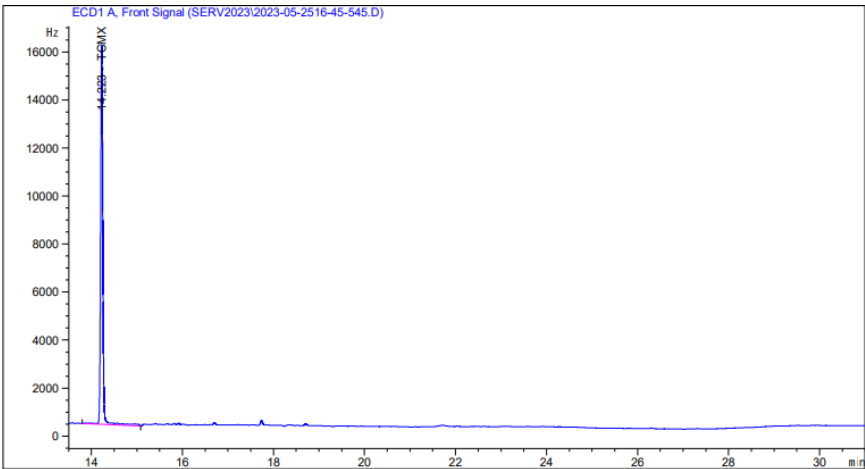


Fig. 12. Cromatograma Muestra NLIA

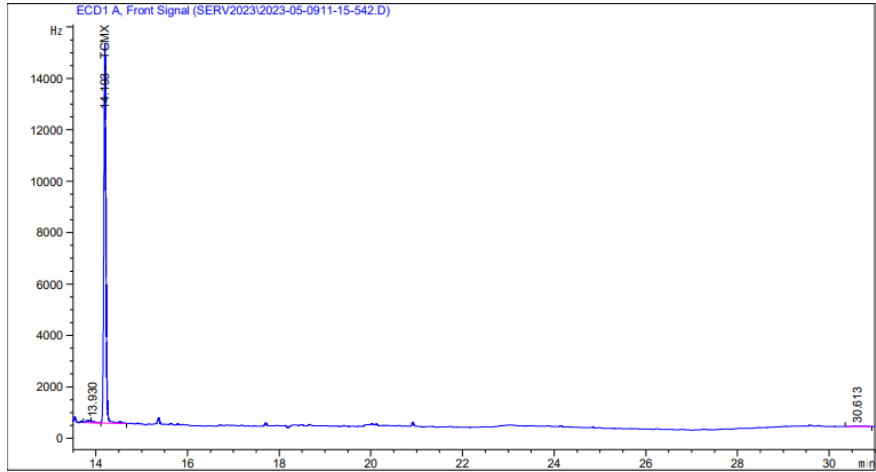


Fig. 16. Cromatograma Muestra NL2C

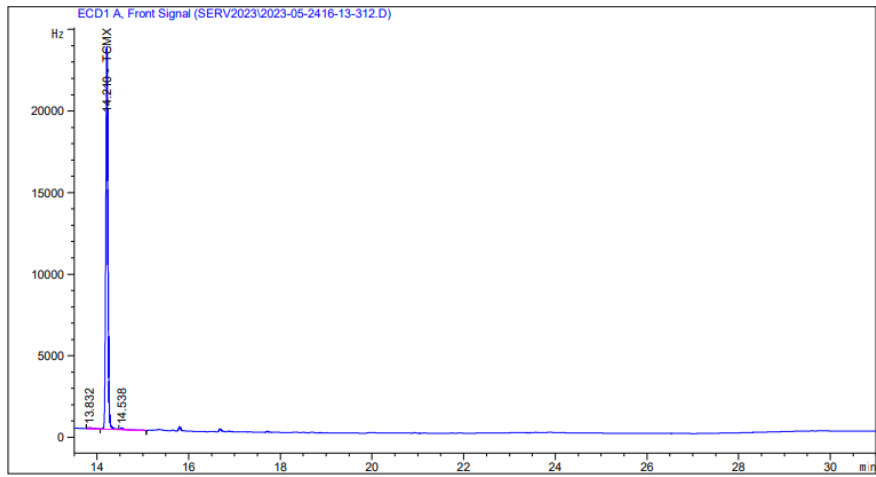


Fig. 17. Cromatograma Muestra RLIA

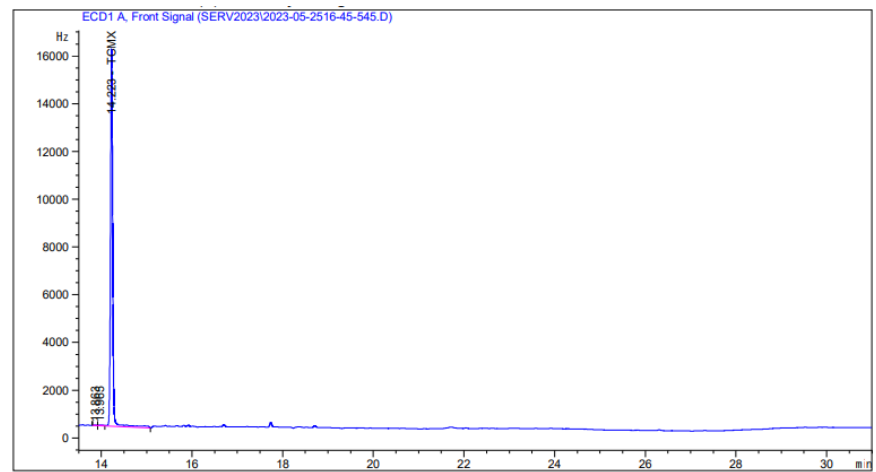


Fig. 18. Cromatograma Muestra RLIB

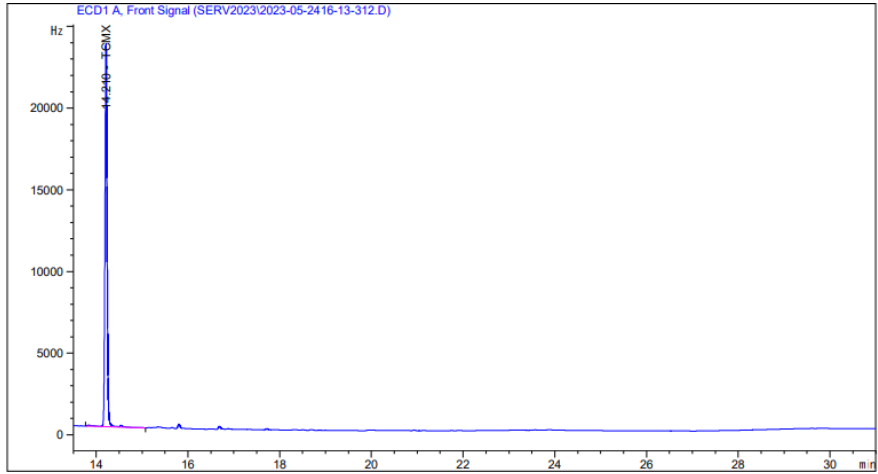


Fig. 19. Cromatograma RL1C

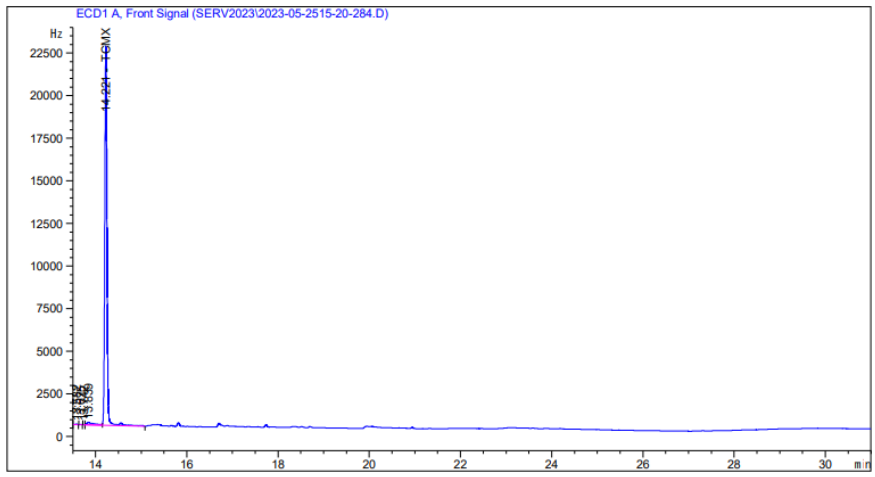


Fig.20. Cromatograma Muestra RL2A

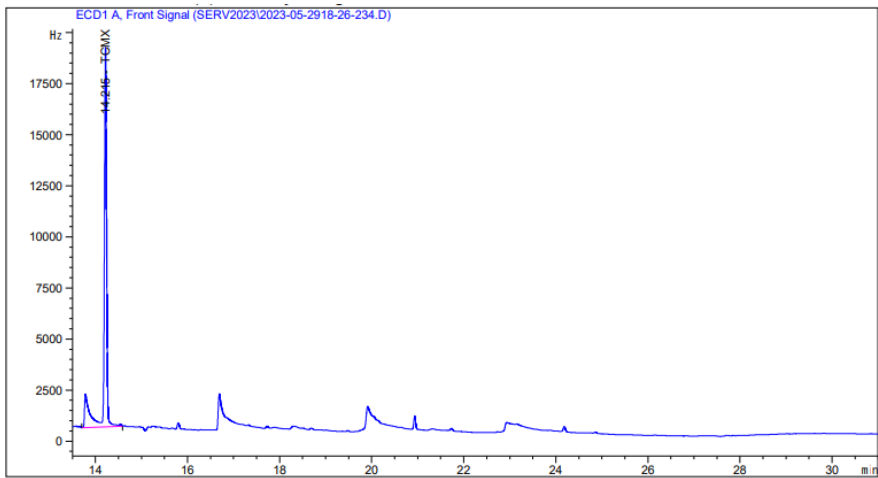


Fig. 21. Cromatograma Muestra RL2C

Referencias

1. Chamizo, J.A. La No Neutralidad de La Química Vista Desde La Historia. *Educación Química* **2020**, *31*, 156, doi:10.22201/fq.18708404e.2020.4.7658 0.
2. Fernández Bremauntz, Adrián. *Las sustancias tóxicas persistentes en México*; 1. ed.; Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología: México, D.F., 2004; ISBN 978-968-817-703-7.
3. Cubría García, C.; Ordoñez Pascua, C.; Reguera Torres, R.María.; Pérez Reyes, Y.; Balaña Fouce, R. *Contaminantes orgánicos y persistentes en alimentos: Toxicología alimentaria*; Editorial Díaz de Santos, S.A., 2012; ISBN 978-84-9969-180-0.
4. Vera, J. Implementación y validación de un método analítico para la determinación de contaminantes orgánicos persistentes COPs en leche materna, Universidad de Chile: Santiago de Chile, 2017.
5. Marranzini, C.; Bello, L.; Vallejo Degaudenzi, A.; Gómez, A.M.; Echavarría, E. Determinación de Contaminantes Orgánicos Persistentes En Leche de Vaca de Producción Nacional Por Medio de La Técnica de Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas (GC/MS). *cac* **2020**, *3*, 5–18, doi:10.22206/cac.2020.v3i2.pp5-18.
6. Guitart, R. *Tóxicos: los enemigos de la vida*; Universitat Autònoma de Barcelona: Barcelona, 2014; ISBN 978-84-941904-1-4.
7. Gastalver, M. *UF1179 - Tratamientos Previos de La Leche*; Elearning, S.L, 2015;
8. Giesy, J.P.; Kannan, K. Dioxin-Like and Non-Dioxin-Like Toxic Effects of Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Implications For Risk Assessment. *Critical Reviews in Toxicology* **2008**, *28*, 511–569, doi:10.1080/10408449891344263.
9. Roveda, A.M.; Veronesi, L.; Zoni, R.; Colucci, M.E.; Sansebastiano, G. [Exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) in food and cancer risk: recent advances]. *Ig Sanita Pubbl* **2006**, *62*, 677–696.
10. Fikarová, K.; Machián, D.; Yıldırım, S.; Solich, P.; Horstkotte, B. Automated Centrifugation-Less Milk Deproteinization and Homogenous Liquid-Liquid Extraction of Sulfonamides for Online Liquid Chromatography. *Analytica Chimica Acta* **2022**, *1233*, 340507, doi:10.1016/j.aca.2022.340507.
11. Trujillo, O. *Análisis de Pesticidas Por Cromatografía de Gas Un Modelo Operacional*; Primera Edición.; Universidad Nacional de Colombia: Manizales, 2006; ISBN 978-958-8280-05-9.
12. Avancini, R.M.; Silva, I.S.; Rosa, A.C.S.; Sarcinelli, P.D.N.; De Mesquita, S.A. Organochlorine Compounds in Bovine Milk from the State of Mato Grosso Do Sul – Brazil. *Chemosphere* **2013**, *90*, 2408–2413, doi:10.1016/j.chemosphere.2012.10.069.
13. PNUMA *Convenio de Estocolmo Sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes COP*; 2009;
14. Perelló, G.; Martí-Cid, R.; Castell, V.; Llobet, J.M.; Domingo, J.L. Influence of Various Cooking Processes on the Concentrations of PCDD/PCDFs, PCBs and PCDEs in Foods. *Food Control* **2010**, *21*, 178–185, doi:10.1016/j.foodcont.2009.05.003.
15. Malisch, R.; Kotz, A. Dioxins and PCBs in Feed and Food — Review from European Perspective. *Science of The Total Environment* **2014**, *491–492*, 2–10, doi:10.1016/j.scitotenv.2014.03.022.
16. Tressou, J.; Ben Abdallah, N.; Planche, C.; Dervilly-Pinel, G.; Sans, P.; Engel, E.; Albert, I. Exposure Assessment for Dioxin-like PCBs Intake from Organic and Conventional Meat Integrating Cooking and Digestion Effects. *Food and Chemical Toxicology* **2017**, *110*,

- 251–261, doi:10.1016/j.fct.2017.10.032.
17. Ramezani, S.; Mahdavi, V.; Gordan, H.; Rezadoost, H.; Oliver Conti, G.; Mousavi Khaneghah, A. Determination of Multi-Class Pesticides Residues of Cow and Human Milk Samples from Iran Using UHPLC-MS/MS and GC-ECD: A Probabilistic Health Risk Assessment. *Environmental Research* **2022**, *208*, 112730, doi:10.1016/j.envres.2022.112730.
 18. Coba, J. Determinación de residuos de plaguicidas organoclorados en frutillas (*fragaria* spp.), recolectadas en la provincia de pichincha por cromatografía de gases (GC-ECD), Universidad Central del Ecuador: Quito, 2017.
 19. Güzel, B.; Canlı, O. An Environmental Friendly and Stable Analytical Method for the Determination of Indicator Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Solid and Waste Oil Samples by Gas Chromatography-Electron Capture Detector (GC-ECD). *Microchemical Journal* **2022**, *178*, 107325, doi:10.1016/j.microc.2022.107325.
 20. Dmitrovic, J.; Chan, S.C. Determination of Polychlorinated Biphenyl Congeners in Human Milk by Gas Chromatography–Negative Chemical Ionization Mass Spectrometry after Sample Clean-up by Solid-Phase Extraction. *Journal of Chromatography B* **2002**, *778*, 147–155, doi:10.1016/S0378-4347(01)00447-9.
 21. Li, F.; Jin, J.; Tan, D.; Xu, J.; Dhanjai; Ni, Y.; Zhang, H.; Chen, J. High Performance Solid-Phase Extraction Cleanup Method Coupled with Gas Chromatography-Triple Quadrupole Mass Spectrometry for Analysis of Polychlorinated Naphthalenes and Dioxin-like Polychlorinated Biphenyls in Complex Samples. *Journal of Chromatography A* **2016**, *1448*, 1–8, doi:10.1016/j.chroma.2016.04.037.
 22. Fiedler, H.; Li, X.; Zhang, J. Persistent Organic Pollutants in Human Milk from Primiparae – Correlations, Global, Regional, and National Time-Trends. *Chemosphere* **2023**, *313*, 137484, doi:10.1016/j.chemosphere.2022.137484.
 23. Lorenzi, V.; Ghidini, S.; Angelone, B.; Ferretti, E.; Menotta, S.; Fedrizzi, G.; Varisco, G.; Foschini, S.; Diegoli, G.; Bertocchi, L. Three Years of Monitoring of PCDD/F, DL-PCB and NDL-PCB Residues in Bovine Milk from Lombardy and Emilia Romagna Regions (Italy): Contamination Levels and Human Exposure Assessment. *Food Control* **2016**, *68*, 45–54, doi:10.1016/j.foodcont.2016.03.034.
 24. Zumbado Fernández, H. *Análisis Químico de Los Alimentos: Métodos Clásicos*; Editorial Universitaria, 2004; ISBN 978-959-16-0253-4.
 25. JANOUŠKOVÁ, E.; KRBŮŠKOVÁ, M.; ŘEHŮRKOVÁ, I.; KLÍMOVÁ, M.; PROKEŠ, L.; RUPRICH, J. Determination of Chlordane in Foods by Gas Chromatography 2005.
 26. Lachat, L.; Glauser, G. Development and Validation of an Ultra-Sensitive UHPLC–MS/MS Method for Neonicotinoid Analysis in Milk. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66*, 8639–8646, doi:10.1021/acs.jafc.8b03005.
 27. Sack, C.; Smoker, M.; Chamkasem, N.; Thompson, R.; Satterfield, G.; Masse, C.; Mercer, G.; Neuhaus, B.; Cassias, I.; Chang, E.; et al. Collaborative Validation of the QuEChERS Procedure for the Determination of Pesticides in Food by LC–MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 6383–6411, doi:10.1021/jf201618q.
 28. Billmeyer, F.W. *Ciencia de los polímeros*; Editorial Reverté: Barcelona, 2020; ISBN 978-84-291-9162-2.
 29. OMS, FAO *Leche y Productos Lácteos. Segunda edición*; D - FAO, 2011; ISBN 978-92-5-305837-2.
 30. Aguinaga, N.; Campillo, N.; Viñas, P.; Hernández-Córdoba, M. Determination of 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Milk and Related Products Using Solid-Phase

- Microextraction Coupled to Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Analytica Chimica Acta* **2007**, *596*, 285–290, doi:10.1016/j.aca.2007.06.005.
31. Lehotay, S.J.; Collaborators; O’Neil, M.; Tully, J.; García, A.V.; Contreras, M.; Mol, H.; Heinke, V.; Anspach, T.; Lach, G.; et al. Determination of Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate: Collaborative Study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* **2007**, *90*, 485–520, doi:10.1093/jaoac/90.2.485.
 32. Hasan, G.M.M.A.; Shaikh, Md.A.A.; Satter, M.A.; Hossain, Md.S. Detection of Indicator Polychlorinated Biphenyls (I-PCBs) and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Cow Milk from Selected Areas of Dhaka, Bangladesh and Potential Human Health Risks Assessment. *Toxicology Reports* **2022**, *9*, 1514–1522, doi:10.1016/j.toxrep.2022.07.008.
 33. Esposito, M.; Serpe, F.P.; Neugebauer, F.; Cavallo, S.; Gallo, P.; Colarusso, G.; Baldi, L.; Iovane, G.; Serpe, L. Contamination Levels and Congener Distribution of PCDDs, PCDFs and Dioxin-like PCBs in Buffalo’s Milk from Caserta Province (Italy). *Chemosphere* **2010**, *79*, 341–348, doi:10.1016/j.chemosphere.2010.01.025.
 34. Karrar, E.; Mohamed Ahmed, I.A.; Huppertz, T.; Oz, F.; Wei, W.; Wang, X. Determination of Triacylglycerols in Milk Fat from Different Species Using UPLC–Q-TOF–MS. *International Dairy Journal* **2022**, *133*, 105405, doi:10.1016/j.idairyj.2022.105405.
 35. *Principles and Practices of Method Validation: Proceedings of the Joint AOAC/FAO/IAEA/IUPAC International Workshop on the Principles of Method Validation Held in November 1999 in Budapest, Hungary*; Fajgelj, A., Ambrus, Á., AOAC International, Eds.; Special publication / Royal Society of Chemistry; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2000; ISBN 978-0-85404-783-3.
 36. Pathania, P.; Sharma, V.; Arora, S.; Rao, P.S. A Novel Approach to Detect Highly Manipulated Fat Adulterant as Reichert–Meissl Value-Adjuster in Ghee (Clarified Butter) through Signature Peaks by Gas Chromatography of Triglycerides. *J Food Sci Technol* **2020**, *57*, 191–199, doi:10.1007/s13197-019-04047-3.
 37. Lehotay, S.J.; Maštovská, K.; Yun, S.J. Evaluation of Two Fast and Easy Methods for Pesticide Residue Analysis in Fatty Food Matrixes. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* **2005**, *88*, 630–638, doi:10.1093/jaoac/88.2.630.
 38. Amziane, A.; Monteau, F.; El Djalil Lalaouna, A.; Alamir, B.; Le Bizec, B.; Dervilly, G. Optimization and Validation of a Fast Supercritical Fluid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Method for the Quantitative Determination of a Large Set of PFASs in Food Matrices and Human Milk. *Journal of Chromatography B* **2022**, *1210*, 123455, doi:10.1016/j.jchromb.2022.123455.
 39. Mendieta, C.; Ortega, N.; Cueva, N.; Figueroa, J. *Revista Politécnica*. 2017, pp. 4–12.
 40. Plaza-Bolaños, P.; Frenich, A.G.; Vidal, J.L.M. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food and Beverages. Analytical Methods and Trends. *Journal of Chromatography A* **2010**, *1217*, 6303–6326, doi:10.1016/j.chroma.2010.07.079.
 41. Wu, X.; Tong, K.; Yu, C.; Hou, S.; Xie, Y.; Fan, C.; Chen, H.; Lu, M.; Wang, W. Development of a High-Throughput Screening Analysis for 195 Pesticides in Raw Milk by Modified QuEChERS Sample Preparation and Liquid Chromatography Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Separations* **2022**, *9*, 98, doi:10.3390/separations9040098.
 42. Domingo, J.L. Concentrations of Environmental Organic Contaminants in Meat and Meat Products and Human

Dietary Exposure: A Review. *Food and Chemical Toxicology* **2017**, *107*, 20–26,

doi:10.1016/j.fct.2017.06.032.