

Evaluación de la Banana Ecuatoriana de acuerdo con Estándares Internacionales de Seguridad Alimentaria, para Garantizar su Certificación y Fortaleza Competitiva

Carola Resabala Zambrano, Ing. Quím., MSc
Laboratorio de Cromatografía del Instituto de Ciencias Químicas y Ambientales
Escuela Superior Politécnica del Litoral
Km 30.5 vía perimetral, Guayaquil, Ecuador
cresabal@espol.edu.ec

Resumen

Los requerimientos actuales de los mercados trascienden calidad, disponibilidad y precios, e involucran otros parámetros como seguridad alimentaria y buenas prácticas agrícolas, tornándose en barreras no arancelarias para la comercialización de la banana ecuatoriana. El objetivo de esta investigación fue implementar una metodología analítica para residuos de pesticidas en banano, establecer la calidad de la fruta en seguridad alimentaria y evaluar la residualidad de pesticidas. Se empleó una metodología que incluyó trabajo de laboratorio y trabajo de campo. En el laboratorio se implementó mediante protocolos ISO 170025, un método de análisis de multiresiduos aplicado a 5 pesticidas utilizados en el banano (Terbufos, Clorotalonil, Clorpirifos, Imazalil y Propiconazole). En campo se aplicó un diseño de muestreo que relacionó área de producción y número de productores en el área de estudio (El Oro, Guayas y Los Ríos), siendo el escogimiento de las haciendas completamente al azar, recurriendo a un Marco Lista de Informantes Claves. La información producida fue evaluada aplicando un diseño experimental No paramétrico de Chi Cuadrado, resultando que no existe relación entre productos analizados y localidades muestreadas, es decir que independientemente de los productos y localidades, los resultados revelan que la metodología de muestreo y análisis químico utilizados, fueron consistentes y precisos. Con respecto a residualidad, los valores detectados estuvieron por debajo de los Límites Máximos de Residuos Permitidos (LMRs) establecidos por el Codex Alimentarius para banana. En tal sentido, la comercialización de la banana ecuatoriana puede sacar ventaja competitiva de este atributo y el sector bananero puede contar con la facilidad analítica local para enfrentar con provecho estos retos.

Palabras Claves: Mercados, Seguridad alimentaria, Banana (fruta), Banano (cultivo), Residualidad, ISO 17025, Codex Alimentarius, Ventaja Competitiva.

Abstract

The current requirements of the markets extend quality, availability and prices, and involve other parameters like food security and good agricultural practices, becoming these requirements in nontariff barriers for the commercialization of the Ecuadorian banana. The goal of this research was to implement analytical methodology for pesticides residues in banana, to establish the fruit quality about food security standards, and to evaluate the present situation of Ecuadorian banana producers to the exigencies from international standards of residues. The methodology used, laboratory's job and field's job. In the laboratory was implemented by ISO 170025 protocols, a multiresidues pesticides method applied to 5 pesticides used in the banana crop, whose active ingredients are: Terbufos, Clorotalonil, Clorpirifos, Imazalil and Propiconazole. In field a sampling design was applied related production areas and producers numbers in the study area (El Oro, Guayas, Los Ríos), to the choice of banana farmers was azar used Marco List from Informants Priority. The information was evaluated applying a Non-parametric experimental design of Square Chi, it indicates does not exist any relation between pesticides analyzed sampled localities, that mean that independently of products and localities, the results reveal that the methodology of sampling and methods of analysis used was consistent. With respect to residues, the detected values were below Limited Maximum of Pesticides Residues (LMRs) established by the Codex Alimentarius for banana. Thus, the commercialization of the Ecuadorian banana can take competitive advantage from this attribute and the producers can have with a local analytical facility to all this challenges.

Key Words: Markets, Food Security, Banana (fruit), Banano (crop), Residues, ISO 17025, Codex Alimentarius, Competitive.

1. Introducción

La actividad agrícola en general del país incluyendo el cultivo del banano, se ha orientado tradicionalmente hacia la producción antes que al mercado. Tal orientación ha generado graves problemas, con el resultado del aumento de la oferta de productos y, consecuentemente, la reducción de los precios, de la rentabilidad y de la oportunidad de nuevos ingresos, lo que ha provocado fuertes y recurrentes problemas económicos al sector.

Ante los requerimientos actuales del mercado, es un hecho que existe la necesidad de implementar PRODUCCIÓN INTEGRADA en los sistemas agrícolas bananeros y, demostrar en cualquier momento que se han tomado todas las medidas dentro de lo razonable y se han hecho todas las diligencias de manera oportuna para asegurar la salud del consumidor, es decir que se cumple con la seguridad alimentaria [1].

En tal sentido, el sector bananero requiere contar con tecnologías de apoyo local, para demostrar científicamente las bondades de su producto, y conseguir ventajas competitivas en los mercados globales, dadas las condiciones particulares de producción que tiene el ecosistema tropical ecuatoriano.

Por tanto en este trabajo se establece la siguiente hipótesis: ¿La calidad de la banana ecuatoriana bajo conceptos de seguridad alimentaria se puede garantizar por medio de monitoreo especializado y técnicas confiables de análisis de residuos?

2. Objetivos

General

Contribuir a la seguridad alimentaria exigida por normas internacionales de calidad, permitiendo al sector bananero mayor competitividad en los mercados globales.

Específicos

Establecer un diseño de muestreo confiable, con el objeto de evaluar al sector bananero exportador considerando las distintas categorías de productores: pequeños, medianos y grandes.

Implementar una metodología para el análisis de residuos de pesticidas (Terbufos, Chlorotalonil, Chlorpyrifos, Imazalil, Propiconazole), mediante el sistema analítico GC-ECD y protocolos de validación, confirmación y aseguramiento de calidad de acuerdo a Norma ISO 17025.

Evaluar los resultados de residualidad, con respecto a los límites permisibles establecidos por el *Codex Alimentarius*.

Determinar la calidad de la fruta calificándola como “Libre de Residuos de Pesticidas”.

3. Materiales y Métodos

El equipo principal utilizado es un cromatógrafo Shimadzu modelo 14A con detector de captura de electrones (ECD), inyector split/splitless, columna capilar SPB5 y equipos auxiliares como ultra turrax, concentrador con N₂, material de vidrio pirex grado, reactivos grado GC de alta pureza (Acetona, diclorometano, éter de petróleo, etil acetato, y hexano).

Las fases metodológicas principales para la realización del trabajo incluyeron: determinación del área de estudio (El Oro, Guayas y Los Ríos), muestreo, implementación de método de análisis, determinación de residuos de pesticidas en la fruta, comparación de resultados con estándares internacionales y manejo estadístico.

Diseño y aplicación de muestreo

Para establecer el diseño de muestreo se tomó en cuenta el área sembrada de cada provincia y el número de productores. Por considerar las áreas muy representativas y los sistemas de producción relativamente homogéneos, además de los recursos, se estableció el tamaño total de muestra en 16 haciendas distribuidas proporcionalmente en las tres provincias.

En prevención de que el “Marco Lista” no estuviera disponible ni actualizado, se optó alternativamente para la selección de haciendas, por un “Marco Lista de Informantes Claves” [3]. Este nuevo marco facilitó la selección de la muestra por medio de personas vinculadas al sector que proporcionaron datos sobre las fincas y lugares representativos dentro de cada estrato. La toma de muestra se realizó en la empacadora de cada una de las haciendas seleccionadas, después del último tratamiento en las piscinas de la empacadora y lista para ser empacada y subsiguiente embarque. Se escogió al azar diferentes clusters de frutas, que luego se combinaron para constituir una muestra compuesta y ser llevadas al laboratorio.

Implementación de método de análisis

La técnica específica para análisis de residuos de pesticidas es cromatografía de gases [6]. El método de análisis referencial seleccionado para este trabajo, corresponde a uno desarrollado en la Universidad

Jaume I de Castellón-España en una tesis doctoral [4]. A pesar que este método cubre un grupo de cuatro fungicidas (Bitertanol, Carbendazina, Thiabendazole, o-Fenilfenol), en este trabajo de tesis se lo adaptó para 5 pesticidas usados en las diferentes etapas del control fitosanitario del banano, dejando de incluir los cuatro fungicidas señalados anteriormente por falta de patrones.

El método referencial establece la siguiente preparación de muestra: 10 g de muestra compuesta de banana se licua a alta velocidad con 20 ml de acetona + 40 ml de mezcla (Diclorometano/Eter de Petróleo 1:1) + 40 ml de etil acetato, luego se toma 5 ml de alícuota y se transfiere a solvente hexano. Se purifica en una columna de florisil, eluyendo con 7 ml de una mezcla de hexano:acetona (1:1). El extracto se concentra a 1 ml y se inyecta al cromatógrafo [4].

Para la implementación de un método de análisis se recurre a la validación del mismo. La validación consiste en la confirmación sistemática del método de análisis hasta demostrar que este es funcional a las condiciones del laboratorio y sensibilidades requeridas, para lo cual se llevan a cabo varios protocolos que incluyen:

- Identificación y Condiciones del Equipo
- Alcance del Método
- Linealidad
- Ensayos de especificidad
- Porcentaje de recuperación
- Repetibilidad y Reproducibilidad
- Límite de Detección y Cuantificación

Diseño Experimental

Para evaluar los resultados de los análisis de residuos de pesticidas en las tres provincias se utilizó la prueba de Chi Cuadrado [2], que es un método no paramétrico que trabaja con variables discretas y continuas y se usa para interacciones.

Se utilizó una tabla de contingencia con los datos observados de la lectura de los residuos de pesticidas inferiores a 0.05 considerados “No Detectado” (nd) entre productos (Pesticidas) y localidades (Provincias).

Se prueba la siguiente hipótesis de independencia:

Ho: No existe relación entre productos y localidades

Ha: Sí existe relación entre productos y localidades.

Para lo cual se calcula el Chi Cuadrado de la siguiente manera:

$$X^2 \text{ calculado} = \frac{\sum (\text{Observado} - \text{Esperado})^2}{\text{Esperado}}$$

Luego se lo compara con el Chi Cuadrado (X^2) de la tabla para determinar si se acepta o se rechaza la hipótesis nula.

4. Resultados y discusión

Establecimiento de un diseño de muestreo confiable para evaluar a productores bananeros según categoría de explotación

El diseño de muestreo aplicado consistió en uno estratificado con tamaño de muestra proporcional a los estratos [3]. Cada estrato correspondió a una provincia exportadora, en donde se determinó la fracción muestral en base a datos de área sembrada y número de productores asentados en cada provincia, quedando establecido de la siguiente manera en la Tabla 1:

Tabla 1. Diseño de Muestreo Estratificado

Estratos	Productores Nj	Extension Aj	Ponderación NjAj	$F = \frac{NjAj}{\sum NjAj}$	Fracción Muestral	No.de muestras
El Oro	3887	43352	16	16/31	0.5	8
Guayas	2125	44646	9	9/31	0.3	5
Los Ríos	1104	50419	6	6/31	0.2	3
Total	7116	138417	31	1.00	1.00	16

Por otra parte la selección de haciendas se efectuó recurriendo al “Marco muestral con Informantes clave” [3]. Este nuevo concepto dentro del diseño de muestreo garantiza la aleatoriedad, ya que este informante orienta sobre el área pero no decide sobre la muestra de acuerdo a consideraciones de variabilidad y representabilidad.

Implementación de metodología para análisis de residuos de pesticidas mediante un sistema analítico GC-ECD con protocolos ISO 17025

Identificación y condiciones del equipo. Quedan establecidas las condiciones cromatográficas para identificar a los cinco pesticidas de estudio en una sola corrida, las cuales se presentan a continuación en la Tabla 2 y en la figura 1 se presenta el cromatograma de la mezcla de patrones obtenido, como se aprecia en esta figura, cada pesticida presenta un pico, excepto el Propiconazole que está constituido por dos picos de isómeros.

Tabla 2. Condiciones cromatográficas establecidas

Sistema	Descripción
Equipo:	Cromatógrafo de gases Shimadzu GC 14A
Columna:	Capilar 60 m SPB 5 (No polar)
Temperatura de horno:	Doble rampa desde 120°C hasta 270°C
Flujo Split:	1:50 para análisis de trazas
Detector:	Captura de electrones (ECD) a 300 °C
Temperatura de inyector:	260 °C

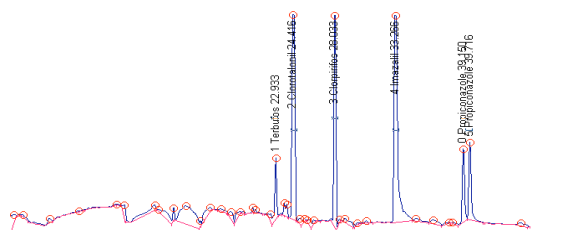


Figura 1. Cromatograma con mezcla de patrones de Pesticidas

Alcance. De acuerdo a las condiciones de operación establecidas queda definido el siguiente alcance detallado en la Tabla 3.

Tabla 3. Alcance del trabajo del laboratorio de cromatografía

Tecnología GC-ECD	Grupo Químico	Usos
Terbufos	Organofosforado	Nematicida
Clorotalonil	Organoclorado	Fungicida
Clorpirifos	Organofosforados	Insecticida
Imazalil	Triazol	Fungicida
Propiconazole	Triazol	Fungicida

Linealidad y curvas de calibración. Se determinaron los índices de linealidad (R^2) para cada compuesto, tal como se detalla en la Tabla 4. Todos estos índices estuvieron por encima de 0.98, siendo este un valor altamente aceptado, como lo indica la prueba de linealidad $((R^2 - 0.98) / R^2 \times 100)$ [4].

Tabla 4. Índice de linealidad (R^2). Coeficiente de Regresión entre área y concentración y desviación de la linealidad

Pesticida	Rango de conc. (ug/L o ppb)	Tasa de Incremento da/dc	R^2	Desviación $(R^2 - 0.98) R^2 \times 100$
Terbufos	50 - 1000	2.29	0.9922	1.23
Clorotalonil	50 - 1000	17.86	0.9905	1.06
Clorpirifos	50 - 1000	11.49	0.9905	1.66
Imazalil	50 - 1000	23.17	0.9825	0.25
Propiconazol	50 - 1000	8.64	0.9997	1.97

Especificidad. Como parte de los ensayos de especificidad se preparó un blanco de reactivo, el cual consiste en la aplicación del procedimiento completo de análisis pero sin muestra. Esto permite evaluar la calidad de los reactivos y la posible contaminación cruzada. Adicionalmente se practicó un blanco de equipo, el mismo que consiste en realizar una corrida en el equipo con las condiciones de operación pero sin la inyección de muestra. De esta manera se puede evaluar la señal del ruido, columna, inyector, detector, gas portador, posibles fugas, etc. Para efectos de cuantificación cualquier señal generada en ambos casos debe ser restada de la señal de la muestra.

Porcentaje de recuperación. Los valores aceptados van de 70 al 110% [4]. Las recuperaciones estimadas para los cinco pesticidas se presentan en la Tabla 5. Al promediar las áreas de pico tanto de las muestras fortificadas como del patrón añadido se evidencia que están bastantes similares, lo que nos confirma una recuperación promedio de un 99.78%.

Tabla 5. Porcentaje estimado de recuperación de pesticidas en muestras de banana

Pico	Pesticida	Prom.	Patrón	R (%)
1	Terbufos	2,374.41	2,956.25	80
2	Clorotalonil	20,411.21	21,072.28	97
3	Clorpirifos	13,024.29	14,329.13	91
4	Imazalil	24,301.26	27,620.30	88
5	Propiconazole	12,821.78	9,949.39	128
Promedio		12,155.49	12,754.56	99.78

Repetibilidad y Reproducibilidad. Por medio de un análisis estadístico de los datos obtenidos de Repetibilidad y Reproducibilidad (R&R) se mide la exactitud y precisión intermedia respectivamente. La desviación estándar y el coeficiente de variación, son parámetros indicativos de la variabilidad absoluta y relativa. Como valor de referencia del coeficiente de variación se considera que no debe ser mayor de un 15 % [4]. Los valores obtenidos se detallan respectivamente en las Tablas 6 y 7.

Tabla 6. Repetibilidad en muestras fortificadas

Pico	Pesticida	Promedio	Desv.St	CV (%)
1	Terbufos	2,374.41	226.01	9.52
2	Clorotalonil	17,077.88	1254.24	7.34
3	Clorpirifos	13,024.29	1060.71	8.14
4	Imazalil	24,301.26	2557.00	10.52
5	Propiconazol	12,821.78	1873.97	14.62
Promedio		14,586.59	2107.04	13.28

Tabla 7. Reproducibilidad estimada en patrones

Pico	Pesticida	Promedio	Desv.St	CV (%)
1	Terbufos	99.34	36.5	36.7
2	Clorotalonil	1,747.46	102.9	5.9
3	Clorpirifos	756.25	103.8	13.7
4	Imazalil	536.44	55.2	10.3
5	Propiconazole	393.66	51.5	13.1

Límite de detección y límite de cuantificación. La concentración más baja fue 50 ppb y en base a ella se estimó el límite de detección y cuantificación. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Limite Estimado de detección y Cuantificación

Pesticida	LD (ppm)	LC (mg/kg)
Terbufos	0.050	0.10
Clorotalonil	0.025	0.05
Clorpirifos	0.025	0.05
Imazalil	0.025	0.05
Propiconazole	0.025	0.05

En este caso el limite de cuantificación se encuentra por debajo de los Limites de Residuos Máximos Permitidos en la mayoría de los compuestos, exceptuando el Terbufos cuyo LMRs es de 0.05 mg/kg [5]. Esto se debe a que el detector utilizado es más selectivo para compuestos organoclorados y el Terbufos es un organofosforado.

Evaluación de residualidad de pesticidas según límites permisibles establecidos

Los resultados de las frutas correspondientes a las 16 haciendas muestreadas se presentan en la Tabla 9.

De las 16 muestras analizadas 10 exhiben el resultado no detectado, esto significa que están por debajo del límite de cuantificación del método (0.050 mg/kg). De los 5 pesticidas evaluados, se reporta presencia de Clorotalonil (fungicida), Imazalil (fungicida Post Cosecha) y Propiconazole (fungicida). De las muestras que reportaron valores de residuos, 3 muestras están por debajo de los Limites Máximos de Residuos Permitidos (LMRs) establecidos por el Codex Alimentarius para los pesticidas Clorotalonil e Imazalil, y las otras 3 restantes presentan valores similares al LMRs establecido para el Propiconazole [5]. Las muestras que reportan residuos de los pesticidas estudiados fueron 6, esto equivale al 37.5 %.

Tabla 9. Resultados de análisis de residuos de pesticidas en muestras de banana

Código-Lab	Terbufos (mg/kg) LMR=0.05	Clorotalonil (mg/kg) LMR=0.02	Clorpirifos (mg/kg) LMR=0.05	Imazalil (mg/kg) LMR=2	Propiconazole (mg/kg) LMR=0.1
M09-EO-1	nd	nd	nd	nd	nd
M10-EO-2	nd	nd	nd	nd	nd
M11-EO-3	nd	nd	nd	nd	nd
M12-EO-4	nd	0.07	nd	nd	nd
M13-EO-5	nd	nd	nd	nd	nd
M14-EO-6	nd	nd	nd	nd	nd
M15-EO-7	nd	nd	nd	nd	nd
M16-EO-8	nd	nd	nd	nd	0.13
M04-GU-9	nd	nd	nd	0.09	nd
M05-GU-10	nd	nd	nd	nd	nd
M06-GU-11	nd	nd	nd	nd	nd
M07-GU-12	nd	0.05	nd	0.05	nd
M08-GU-13	nd	nd	nd	nd	nd
M01-LR-14	nd	nd	nd	0.12	0.12
M02-LR-15	nd	nd	nd	nd	0.10
M03-LR-16	nd	nd	nd	nd	nd

Determinación de la calidad de la banana

De acuerdo al diseño experimental de Chi Cuadrado, resulta la siguiente tabla de contingencia con los datos observados y esperados de la lectura de los residuos inferiores a 0.05 denominado no detectado.

Tabla 10. Tabla de Contingencia basado en número de "No detectado"

Localidades	Producto					Total
	1	2	3	4	5	
El Oro	8(8.44)	7(7.38)	8(8.44)	8(6.86)	7(6.86)	38
Guayas	5(4.88)	4(4.22)	5(4.88)	3(3.97)	5(3.97)	22
Los Ríos	3(2.66)	3(2.33)	3(2.66)	2(2.16)	1(2.16)	12
Total	16	14	16	13	13	72

La interacción es entre los productos (Pesticidas) y localidades (provincias). El Chi Cuadrado calculado (X^2) resultó de 1.92, y el Chi Cuadrado de la tabla (X^2) a 8 grados de libertad y tabulado al 5% de probabilidad resultó de 15.50. El Chi Cuadrado (X^2) calculado es menor que el Chi Cuadrado (X^2) de la Tabla, por tanto se acepta la Hipótesis nula de que no existe relación entre productos analizados y localidades muestreadas, es decir que independientemente de los productos y localidades, los resultados revelan que la metodología de muestreo y análisis químico utilizados, fueron consistentes y precisos. Esta alta precisión se debe a la calidad de la información, equipo y metodología

de análisis.

De manera general se podría calificar a 13 muestras como “**Libre de Residuos de Pesticidas**” (Terbufos, Clorotalonil, Clorpirifos, Imazalil y Propiconazole) y las otras 3 se les recomendaría un remuestreo y reensayo para confirmación de valores. Por otro lado, de acuerdo a los resultados obtenidos, el número de pesticidas detectados en cada provincia es casi homogéneo (El Oro=2; Guayas=3; Los Ríos=3) tal como se muestra en la figura 2, aunque estos en su mayoría no superan el límite permisible.

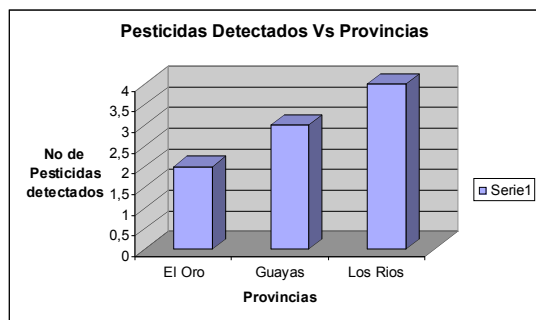


Figura 2. Pesticidas detectados Vs. Provincias

5. Conclusiones

Este trabajo de tesis, en su parte operativa, implementa y valida un método de análisis de residuos de pesticidas (Terbufos, Clorotalonil, Clorpirifos, Imazalil y Propiconazole), mediante tecnología de cromatografía de gases con detección de captura de electrones (GC-ECD), cubriendo los eslabones más críticos de la cadena del manejo fitosanitario del banano.

Se instituye en este tipo de trabajos el concepto nuevo de “Marco Lista con Informante Clave” en el diseño del muestreo, permitiendo un apropiado muestreo estratificado y aleatorio.

Para comprobar la hipótesis del estudio se utiliza un diseño estadístico No Paramétrico de Chi Cuadrado, que permite evaluar esta hipótesis de independencia con las interacciones de producto (pesticidas) y localidades (provincias).

La hipótesis de este estudio que estipula que se puede garantizar la calidad de la banana ecuatoriana mediante monitoreos especializados y técnicas confiables de análisis de residuos que permitan su certificación y competitividad, queda aceptada en base de los resultados de laboratorio y su evaluación estadística.

La capacidad técnica y científica institucional y regional desprendida de la operación del Laboratorio de Cromatografía de la ESPOL (Instituto de Ciencias

Químicas y Ambientales) bajo criterios de la NORMA ISO 17025 y dirigida al establecimiento de sistemas de certificación del sector bananero ecuatoriano, queda fortalecida y activada.

El programa de Maestría en Agricultura Tropical Sostenible que ejecutan la Universidad de Guayaquil y ESPOL, a través de esta tesis ha transmitido un específico impulso al cultivo y producción del banano, en la perspectiva de que se sostenga.

6. Recomendaciones

Es importante que se lleven a cabo otros trabajos que desarrollen nuevos muestreos y ensayos de laboratorio circunscritos a las muestras que dieron valores similares a los Límites de Residuos Permitidos (LMRs). De esta forma se añadirán nuevas y necesarias fortalezas al proceso de certificación de la banana ecuatoriana.

De acuerdo a los recursos y necesidades se recomienda ampliar el rango de análisis a más pesticidas utilizados en el cultivo de banano.

Es imperioso articular todo el esfuerzo posible para fortalecer la capacidad científica y tecnológica local, que permita minimizar las actuales barreras no arancelarias y promover el desarrollo del sector bananero del país.

7. Referencias

- [1] Geocities, 2004. Agro Análisis. *Implantación de sistemas de calidad*. Que es la Producción Integrada y Qué es Producción Orgánica www.geocities.com/frutal2001/pagina6.htm.
- [2] Mendenhall William, 1975. *Introduction to probability and statistics*, Chi-Square test, Fourth Ed. University of Florida.
- [3] Páez Gilberto, 2004. Comunicación personal, Maestría en Agricultura Tropical Sostenible, Guayaquil.
- [4] Zamora Tatiana, 2004. *Determinación de residuos de fungicidas en productos vegetales mediante técnicas cromatográficas avanzadas*. Tesis Doctoral, Universidad Jaume I, Castellón, España.
- [5] FAO, 2004. *Limites de residuos permitido Codex Alimentarius*. www.faostat.fao.org/faostat/pestdes.
- [6] KEULEMANS, A. 1959. *Gas Chromatography*, 2ª ed., Reinhold, New York. Pp. 1.