

“

Determinación y Evaluación de los Plaguicidas Residuales en Banano Ecuatoriano de Consumo en la Ciudad de Guayaquil en el Marco de Seguridad Alimentaria”

Silvia Susana Huayamave Correa¹, Carola Resabala Z.²
Laboratorio de Cromatografía del Instituto de Ciencias Químicas y Ambientales
Escuela Superior Politécnica del Litoral
Km 30,5 Vía Perimetral, Guayaquil, Ecuador
shuayama@espol.edu.ec

1Egresada de Ingeniería en Alimentos

2Directora de Tesis, Universidad Estatal de Guayaquil, Ingeniera Química, Msc, email: cresabal@espol.edu.ec

Resumen

A pesar de que el banano es un alimento de alto poder vitamínico y nutricional, y de su importancia económica, ya que junto con el petróleo ocupa los primeros puestos en generación de divisas al País, el uso de cantidades considerables de plaguicidas para el combate de ‘Sigatoka Negra’ puede provocar presencia de residuos tóxicos, constituyendo un riesgo toxicológico para consumidores, medio ambiente, así como posible pérdida de mercados y oportunidades comerciales.

El objetivo principal de este trabajo consiste en evaluar 9 plaguicidas en banano exigidas por Normas Internacionales de Calidad, que permita garantizar la salud de los consumidores ecuatorianos e incentivar el consumo de la fruta por sus cualidades nutritivas y oportunidades productivas.

Se implementó y optimizó una metodología analítica HPLC-UV-Vis (Cromatografía líquida de alta resolución con detección ultra violeta-visible) y GC-ECD (Cromatografía de gases con captura de electrones) para evaluar plaguicidas del tipo fungidas frecuentemente utilizados en el cultivo de banano por lo que se monitoreó 3 principales centros de abasto de la ciudad para obtener muestras representativas de banano y analizarlas.

Los resultados obtenidos se evaluaron con respecto al Codex Alimentarius para dar un diagnóstico de la situación del banano de consumo interno en relación a plaguicidas residuales, los cuales estuvieron por debajo de los límites establecidos por dicho organismo, con lo que se puede afirmar que nuestra fruta se encuentra libre de plaguicidas y puede ser aprovechada en todas las formas posibles.

Palabras claves: Banano, Plaguicidas, Codex Alimentarius, Cromatografía, HPLC-UV-Vis, GC-ECD

Abstract

Though the banana has high nutritional value and great importance for the economy due to the fact that along with petroleum, they are tops in generating in generating income for the country. The use of large amounts of pesticides in the fight against “Sigatoka Negra” can cause toxic residue to be in the banana. When consumed by the consumer, can exposed them to toxicological dangers and as a result, the possible lost of both commercial and economical gains.

The main objective of this investigation consists of an evaluation of nine pesticides mandated by the International Quality Control of the Banana. This guarantees the health of the Ecuadorian consumers and promotes not only the consumption of the fruit for its nutritional value but also promotes it as a commercial product.

To accomplish these objectives I have implemented and optimized an analytical methodology called HPLC-UV-VIS (high resolution liquid chromatography with electron detection) and GC-ECD (gas chromatography with electron detection) to evaluate the fungal pesticides frequently used in the cultivation of the banana in three principle mercantile areas of the city. Which were monitored in order to obtain a representative sample of bananas for the analysis.

The results obtained were given a diagnostic evaluation according to the “Codex Alimentarius”. For the situation of the internal consumption of bananas with pesticides residues. I found that my samples were way below the limits established by the “Codex” and suitable for human consumption. Therefore it is safe to say that our bananas are relatively free of pesticide residue and safe for both consumers and commercial purpose.

Key words: Banana, Pesticides, Codex Alimentarius, Chromatography, HPLC-UV-Vis, GC-ECD

1. Introducción

El uso de cantidades considerables de plaguicidas en el cultivo de banano para controlar enfermedades como la 'Sigatoka Negra' puede provocar presencia de residuos de estos compuestos, lo cual constituye un riesgo toxicológico para los consumidores, así como una posible pérdida de mercado y de oportunidades comerciales ya que como es de gran conocimiento, el banano es uno de los rubros más importantes de nuestro País, sin olvidar sus atributos nutricionales.

Ante la necesidad de tener conocimiento de la situación del banano con respecto a residuos de plaguicidas con fines de Seguridad Alimentaria, se evaluará 9 plaguicidas usados en banano por medio de la implementación y optimización de una metodología analítica. Estos plaguicidas serán evaluados bajo normas internacionales (*Codex Alimentarius*) que permitan garantizar la salud de los consumidores ecuatorianos e incentivar el consumo de esta fruta por sus cualidades nutritivas y oportunidades productivas.

De esta forma este trabajo dejará implementada una metodología optimizada que permita determinar los plaguicidas en estudio por medio de dos técnicas analíticas como lo son la cromatografía de gases y la cromatografía líquida, lo que permitirá dar un diagnóstico de la situación del banano de consumo interno en relación a plaguicidas residuales.

2. Objetivos

General

Evaluar la residualidad de 9 plaguicidas en banano exigidas por normas internacionales de calidad, que permita garantizar la salud de los consumidores ecuatorianos e incentivar el consumo de esta fruta por sus cualidades nutritivas y oportunidades productivas.

Específico

Implementar y optimizar una metodología analítica HPLC-UV-Vis (Cromatografía líquida de alta resolución con detección ultra violeta-visible) y GC-ECD (Cromatografía de gases con captura de electrones) para evaluar plaguicidas del tipo fungidas muy utilizados en el cultivo de banano (carbendazim, thiabendazole, bitertanol, azoxystrobin, trifloxystrobin, imazalil, difenoconazol y propiconazole).

Monitorear de los principales centros de abasto de la ciudad de Guayaquil

Evaluar los resultados de residualidad de plaguicidas en banano, con respecto a los estándares

internacionales de seguridad alimentaria establecidos por el Codex Alimentarius, que permita incentivar su consumo y la producción de elaborados y semi-elaborados a base de la fruta.

3. Materiales y métodos

Para la determinación de los plaguicidas en estudio, se usaron 2 cromatógrafos, uno de fase líquida de alta resolución con detección ultra violeta-visible (HPLC-DAD) y otro de gases con captura de electrones (GC-ECD) para evaluar plaguicidas del tipo fungidas utilizados en el cultivo de banano (carbendazim, thiabendazole, bitertanol, azoxystrobin, trifloxystrobin, imazalil, difenoconazol y propiconazole).

Para lo cual se propuso la siguiente metodología: implementación del método de análisis, selección y monitoreo de 3 centros de abastos de banano fresco para evaluar residualidad y comparación de resultados con estándares internacionales.

Implementación del método

Las dos técnicas específicas usadas para la determinación de residuos de los plaguicidas de interés son la cromatografía [1], tanto de fase líquida HPLC y cromatografía de fase gaseosa.

El método analítico referencial seleccionado fue el método CEEA, desarrollado en el laboratorio de Ecotoxicología de la Comisión Ecuatoriana de Energía Atómica para la evaluación de plaguicidas en frutas como el banano, en el que se establece el siguiente procedimiento: Pesar 30 g de banano, añadir 60 ml de acetona y agitar con ultraturrax, añadir 30 ml de diclorometano y 30 ml de hexano y agitar. Luego filtrar con 20 gr de SO_4Na_2 purificado*(400°C por 5 horas). Recoger la parte semi-sólida en un tubo de centrifuga y centrifugar por 3 minutos a 3000 RPM. Pasar la fase orgánica que se separó de la masa semi-sólida en un balón de 250 ml y después dar un enjuague con 2 ml de etil acetato. Concentrar en rotaevaporador hasta un volumen de 5 ml y transferir a un tubo cónico y concentrar con nitrógeno. Luego se procede a realizar la purificación o clean up en la columna de permeación de gel o gel permeation, para después, realizar una concentración en rotavaporador y luego con nitrógeno. Luego se inyectan en los sistemas cromatográficos correspondientes.

Se contó con un protocolo analítico que nos ayudó a determinar que nuestro método de análisis es funcional a las condiciones del laboratorio y a las sensibilidades requeridas, por lo que se evaluó linealidad, porcentaje de recuperación, repetibilidad, límite de detección y límite de cuantificación.

4. Análisis de Resultados

Implementación y optimización de una metodología analítica HPLC-UV-Vis (Cromatografía líquida de alta resolución con detección ultra violeta-visible) y GC-ECD (cromatografía de gases con captura de electrones).

Selección del método de análisis y alcance

El método analítico referencial seleccionado para este trabajo, fue el método CEEA, encaminado al análisis de residuos de plaguicidas en frutas como el banano, entre los cuales están los plaguicidas seleccionados para este estudio. El método implementado permite evaluar nueve plaguicidas de tipo fungicida que cumplen diferente acción en el tratamiento fitosanitario del banano, quedando establecido el siguiente alcance:

Tabla 1. Alcance del método

Plaguicidas	Grupo Químico	Tecnología
Carbendazim	Benzimidazol	HPLC-DAD
Thiabendazole	Benzimidazol	HPLC-DAD
Bitertanol	Azol	HPLC-DAD
Azoxystrobin	Estrobirulina	GC-ECD
Trifloxistrobin	Estrobirulina	GC-ECD
Imazalil	Estrobirulina	GC-ECD
Difenoconazol	Triazol	GC-ECD
Propiconazole	Triazol	GC-ECD

Condiciones cromatográficas e Identificación de pesticidas

Quedan establecidas las siguientes condiciones cromatográficas para identificar los plaguicidas, las cuales se presentan en las siguientes tablas junto con los cromatogramas obtenidos:

Tabla 2. Condiciones cromatográficas establecidas para plaguicidas que se determinan por GC-ECD

Equipo:	Cromatógrafo de gases Agilent 6890			
Detector:	Captura de electrónica de micro celda (μ ECD) a 320 °C			
Inyector:	Automático de líquidos 7683.Split/Splitless a 260 °C			
Columna:	Capilar BPX- 5 (No polar) Temperatura máxima: 370 °C Longitud 50 m Diámetro interno: 0.22 mm Film: 0.25 μ m			
Temp. horno:	Temperatura Inicial	Tiempo Inicial	Rampa	Temperatura Final
	160 °C	1.00 min.	10°C/min.	230°C
	230°C	0.00 min.	20°C/min	270°C
	270°C	10.00 min	10°C/min	290°C
	290°C	24 min	0.0 °C/min	

Tabla 3. Condiciones cromatográficas establecidas para plaguicidas que se determinan por HPLC-DAD

Equipo:	Cromatógrafo de fase líquida Spectra System	
Columna:	Hypersil Gold C18 Columna, marca termo Dimensiones: 150x4mm Tamaño de partícula: 5 μ m	
Detector:	UV-Vis con Arreglo de diodos DAD	
Flujo	1,1 ml/min	
Fase móvil	Tiempo Inicial (min)	
	Acetonitrilo(%)	Agua(%)
	0	85
	15	
	3	85
	15	
	9	30
	70	
	11	30
	70	
	12	75
	25	
	15	75
	25	

Linealidad y curvas de calibración

Se estudiaron diferentes intervalos de concentración, incluyendo 6 puntos en la curva de calibración. Se determinaron los índices de linealidad (R^2) o coeficientes de correlación para cada compuesto, tal como se detalla en la tabla 3. Como se aprecia todos estos índices estuvieron por encima de 0,98. De esta manera se confirma la respuesta lineal del equipo para cada uno de los compuestos.

Tabla 4. Índices de linealidad (R^2)

Plaguicidas en estudio	R ²
Carbendazim	0,99
Thiabendazole	0,9998
Bitertanol	0,9965
Trifloxistrobin	0,995
Propiconazole	0,997-0,993
Difenoconazole	0,995-0,996
Azoxystrobin	0,996
Imazalil	0,999

Porcentaje de recuperación

Los valores de área de pico registrados por ambos sistemas para cada compuesto, son comparados con los valores de área del patrón utilizado. Luego se estima el porcentaje en que se recupera después de aplicar toda la metodología de análisis. Los valores aceptados van de 70 al 110% [2]. Las recuperaciones estimadas para los ocho plaguicidas se presentan en el tabla 18

Tabla 5. Porcentajes finales estimados de plaguicidas en muestras de banano

Pesticidas	Porcentaje de recuperación(%)
Carbendazim	75,7
Thiabendazole	82,3
Bitertanol	88,5
Trifloxistrobin	71,7
Propiconazole	83,0
Difenoconazole	97,1
Azoxystrobin	62,3
Imazalil	75,9

Repetibilidad

Esta prueba se obtiene realizando inyecciones el mismo día. La desviación estándar y el coeficiente de variación, son dos parámetros muy 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 % [2].

Tabla 6. Coeficiente de variación estimado en patrones inyectados por tecnología HPLC-DAD

Pesticida	CV (%)					
	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	Nivel 5	Nivel 6
Carbendazim	6,93	1,51	2,84	3,02	1,92	1,32
Thiabendazole	8,18	5,26	4,94	3,83	2,80	0,94

Bitertanol	5,24	5,05	3,81	1,29	0,43	2,04
------------	------	------	------	------	------	------

Tabla 7. Coeficiente de variación estimado en patrones inyectados por tecnología GC-ECD

Pesticida	CV(%)					
	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	Nivel 5	Nivel 6
Trifloxistrobin	3	8,35	1,44	2,89	0,26	0,87
Propiconazole	6,45	7,55	2,75	2,65	1,6	2,85
Difenoconazole	4,9	3,05	3,95	2,38	7,5	2,35
Azoxystrobin	8,5	5,01	2,32	2,81	2,18	2,73
Imazalil	9,85	5,22	6,79	6,48	5,07	9,71

Límite estimado de detección y cuantificación

Las concentraciones más bajas que se usaron para calcular el límite de detección y cuantificación fueron: 0,5 ug/kg para mix HPLC, 0,05 ug/kg para trifloxistrobin, 0,12 ug/kg para propiconazole, 0,53 ug/kg para difenoconazole, 0,24 ug/kg para azoxystrobin y 4 ug/kg para imazalil.

Tabla 8. Limite Estimado de detección (LD) y Cuantificación (LC) para mix HPLC

Plaguicida	LD (ppm)	LC (mg/kg)
Carbendazim	0,11	0,048
Thiabendazole	0,018	0,008
Bitertanol	0,013	0,006

Tabla 9. Limite Estimado de detección (LD) y Cuantificación (LC) para mix GC e imazalil

Plaguicida	LD (ppm)	LC (mg/kg)
Trifloxistrobin	0,15	0,06
Propiconazole	0,047	0,02
Difenoconazole	0,10	0,04
Azoxystrobin	0,41	0,18
Imazalil	0,17	0,08

Evaluación de residualidad de plaguicidas según límites permisibles

Se monitoreó 3 centros de abastos importantes y de cada uno de ellos se evaluó 3 muestras representativas de banano.

De las 9 muestras evaluadas, 4 muestran el resultado de no detectado para los 8 plaguicidas en estudio, lo que representa que están por debajo del límite de cuantificación. Ahora, de los 8 plaguicidas evaluados, se evidencia presencia de thiabendazole en una muestra, e imazalil en 4 muestras. Se puede apreciar que los datos obtenidos están muy por debajo del límite máximo de residuos (LMR) establecidos por el Codex Alimentarius.

Se evidencia que todas las muestras procedentes de un mismo centro de abasto contienen imazalil, pero todas están por debajo del límite máximo de residuos, por lo que se consideran **'libre de residuos de plaguicidas'**. De las muestras evaluadas, el compuesto que más se repite es el imazalil.

Tabla 10. Resultados de análisis de residuos de pesticidas en muestras de banana

	Thiabendazole	Carbendazim	Bitertanol	Azoxistrobin	Trifloxistrobin	Imazalil	Difenoconazole	Propiconazol
LMR [3]	5	0.2	0.05	-	0,05	2	-	0,1
LC	0,008	0,048	0,006	0,18	0,06	0,08	0,04	0,02
S1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
S2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
S3	0,082	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C1	nd	nd	nd	nd	nd	0,08	nd	nd
C2	nd	nd	nd	nd	nd	0,15	nd	nd
C3	nd	nd	nd	nd	nd	0,13	nd	nd
M1	nd	nd	nd	nd	nd	0,08	nd	nd
M2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
M3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

LMR: Límite máximo de residuos (mg/Kg)

nd: no detectado

LC: Límite de cuantificación

Al observar los límites máximos de residuos para plaguicidas establecidos por el Codex Alimentarius, nos damos cuenta que los pocos resultados que obtuvimos están por debajo de ellos, por lo que de manera general se podría decir que las 9 muestras evaluadas están **"libre de Residuos de Pesticidas"**, con respecto a carbendazim, thiabendazole, bitertanol, azoxystrobin, trifloxistrobin, difenoconazole, propiconazole e imazalil.

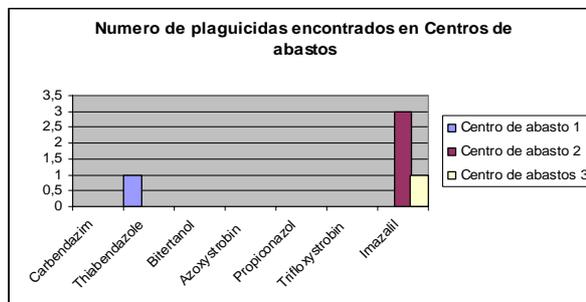


Fig 1. Número de plaguicidas encontrados en centros de abastos

5. Conclusiones

Esta tesis implementó y optimizó un método multiresidual de plaguicidas (carbendazim, thiabendazole, bitertanol, azoxystrobin, trifloxystrobin, imazalil, difenoconazole y propiconazole), mediante tecnologías de cromatografía de gases con detección de captura de electrones (GC-ECD) y cromatografía de líquidos con detección de arreglo de diodos.

Se logró establecer que las muestras seleccionadas de 3 centros de abastos importantes y concurridos están libres de plaguicidas de acuerdo a los Límites Máximos de Residuos establecidos por el Codex Alimentarius, lo que permite incentivar el consumo de la fruta por sus cualidades nutritivas, mejorar nuestros hábitos alimenticios y motivar a la industria alimenticia ecuatoriana al desarrollo de productos a base de banana.

Queda fortalecida la capacidad técnica para el análisis de residuos de plaguicidas, ya que pocos profesionales dominan una técnica analítica fina como lo es la cromatografía a nivel de trazas y ultra-trazas.

6. Recomendaciones

Las muestras analizadas en su mayoría han reportado el resultado de no detectado (nd), sin embargo estos resultados podrían ser confirmados con análisis de laboratorios certificados, ya sea dentro o fuera del país.

Sería recomendable realizar una validación del método implementado y optimizado con el objeto de asegurar la exactitud de los resultados obtenidos, proporcionando confianza y seguridad a todas las partes interesadas.

Son pocos los estudios de seguridad alimentaria para el consumidor interno, pues la atención se centra en el producto que se exporta y que hay de la salud y la nutrición de los ecuatorianos. Por eso es necesario que se ponga todo el esfuerzo posible para fortalecer la capacidad científica y tecnológica local y realizar más estudios de esta índole que permitan dar un paso hacia delante en lo que respecta a ciencia y tecnología.

7. Referencias

[1] RESABALA C.; Evaluación de la banana ecuatoriana de acuerdo con estándares internacionales de seguridad alimentaria para garantizar su certificación y fortaleza competitiva. Tesis maestría en agricultura tropical sostenible, Universidad de Guayaquil-ESPOL

[2] ZAMORA TATIANA, 2004. Determinación de residuos de fungicidas en productos vegetales mediante técnicas cromatográficas avanzadas. Tesis Doctoral, Universidad Jaume I, Castellón, España.

[3] FAO 2004, Límites Máximos de residuos Permitidos

.....
Ing. Carola Resabala Z.
Directora de Tesis

Fecha: 26/11/07