

Montevideo, 27 de diciembre de 2019.

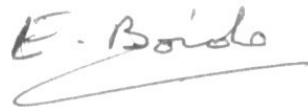
Sr. Ariel Martínez

Presente

A continuación, se entrega el complemento del informe final de la consultoría: Ajuste de tecnología de análisis rápido de glifosato, del proyecto "Fortalecimiento de la capacidad exportadora del sector apícola del Uruguay a través del aseguramiento de la inocuidad y la incorporación de tecnología" financiado por ANDE.

Sin otro particular

Saluda atentamente

A handwritten signature in black ink, appearing to read "E. Boido". The signature is written in a cursive style with a long horizontal flourish underneath.

Dr. Eduardo Boido

De acuerdo al informe de avance de la consultoría con fecha 30 de abril de 2019, se manifestó la necesidad de agregar mayor número de muestras a la calibración de glifosato en miel utilizando la tecnología NIR.

Con este fin se utilizó como instrumento de medida un NIR de la marca Büchi modelo NIRFlex N-500 con la celda de medida para sólidos NIRFlex perteneciente al Departamento de Proyectos Forestal del LATU.

Las muestras utilizadas para el desarrollo de la calibración y validación del modelo fueron 5 muestras de miel que se contaminaron en distintos niveles de glifosato.

Por otra parte se utilizaron otro grupo de 5 muestras para la predicción de la concentración de glifosato a partir de la calibración obtenida. Las 5 muestras originales y las 5 muestras posteriormente utilizadas en la predicción fueron analizadas por HPLC-MS/MS en el Instituto San Michele all'adige.

Con el fin de obtener el mejor modelo de calibración, se ensayaron diferentes pretratamientos de datos y se utilizó un set de muestras para la validación, obteniéndose los mejores parámetros en la calibración Project 3 (Figura 1). La calibración Project 3 se realizó con un suavizado de datos mediante promedio de 3 puntos y posterior derivada segunda del espectro mediante método de Savitzky-Golay.

Muestra	Concentración
10,01678	636113,85370,220,01778,337113,754113,730,01878,34094,055113,349,819113,04194,0600,059,820113,542103,8610,069,721112,843103,86251,0726,022163,944129,26351,0825,423166,845129,264113,6925,524161,546172,365113,91035,4300,047172,8700,01135,2310,048258,8710,01235,33225,349258,37225,51351,03325,65035,07325,51451,03451,15135,07478,71551,23550,95270,37578,5

Figura 1. Valores predichos de glifosato en muestras de miel vs concentración real de glifosato

aplicando la calibración obtenida en Project 3.

En la Tabla 2 se muestra la predicción de los valores obtenidos con la calibración Project 3 y el

valor real obtenido por HPLC-MS/MS.

Tabla 2. Valores reales y predichos del batch de pedicción

Según los datos presentados en la Tabla 2, solo una de las muestras que presentó un valor real de 48 ppb fue erróneamente clasificada como superando el límite establecido para exportación en la unión europea.

Cabe destacar que la calibración fue realizada utilizando 5 mieles que se contaminan a niveles distintos y la predicción se realizó con mieles diferentes a las utilizadas en el desarrollo del modelo.

Se realizó otra prueba en la cual el modelo de calibración y validación se realizó con 10 mieles (las 5 iniciales y las 5 que se utilizaron para la predicción) y para predecir se sacaron 5 muestras contaminadas de las que en la experiencia anterior se habían usado para la calibración.

Según los datos presentados en la Tabla 3, todas las muestras son bien clasificadas con mayor o

menor contenido de glifosato según el límite establecido para exportación en la unión europea.

Dadas las calibraciones obtenidos hasta el momento (Project 3) y con la mejora en la predicción obtenida en la segunda calibración realizada (al variar el batch de predicción), se concluye que es necesario incluir mayor número de muestras reales al modelo, ya

que cuanto mayor variabilidad en la matriz (miel) se incluya en el modelo se nota una mejora en los valores que es capaz de predecir el mismo.

Se agregaron al modelo 44 muestras de miel todas con distintos orígenes polínicos, conjuntamente se midieron 10 mieles más de forma de poder predecir otras mieles externas al modelo y diferentes.

Para la calibración se utilizaron los pre tratamientos puestos a punto durante el informe de avance.

En esta etapa se realizaron dos validaciones de la calibración obtenida. En la figura 1 se muestran los resultados obtenidos utilizando un set de validación de (creado por el propio programa utilizado, que toma 1/3 de las muestras), en la tabla 1 se muestran los valores predecidos utilizando este modelo. En la figura 2 y Tabla 2 se muestran los resultados de la validación realizada con cross validation.

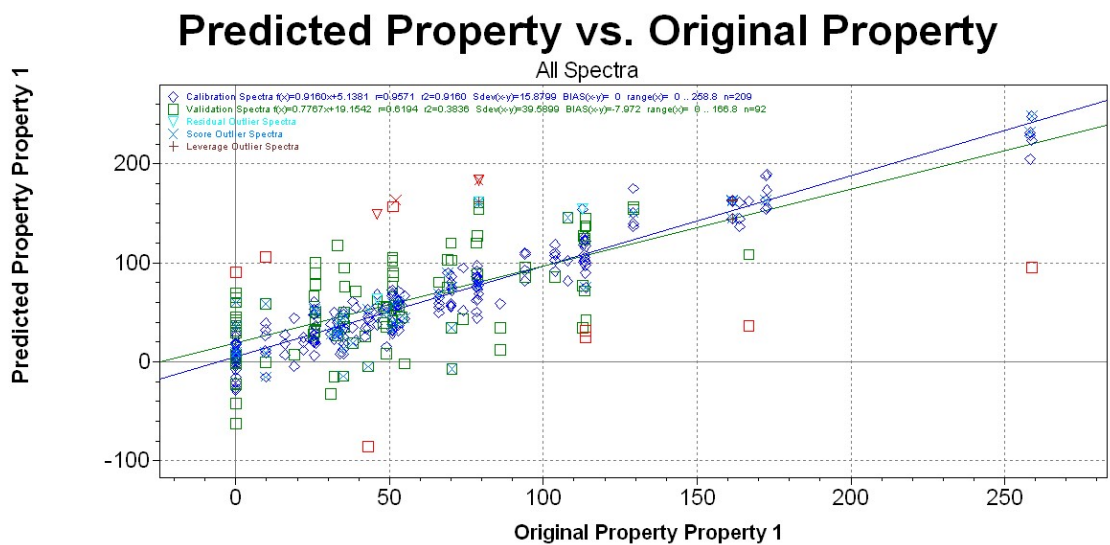


Figura 1. Valores predecidos de glifosato en muestras de miel vs concentración real de glifosato aplicando la calibración obtenida en Project 3 utilizando durante la validación el método de set de validación.

Tabla 1. Valores reales y predcidos del batch de pedicción utilizando en la validación el método de set de validación.

Predicción utilizando set de validación		
Valores predcidos	Promedio	Valor real
91		
46		
59	65	10
36		
42		
50	43	21
37		
0		
38	25	32
47		
30		
18	32	39
51		
57		
32	46	68
104		
23		
69	65	86
48		
40		
0	29	94
100		
162		
161	141	97
29		
93		
123	82	114
74		
184		
113	123	170

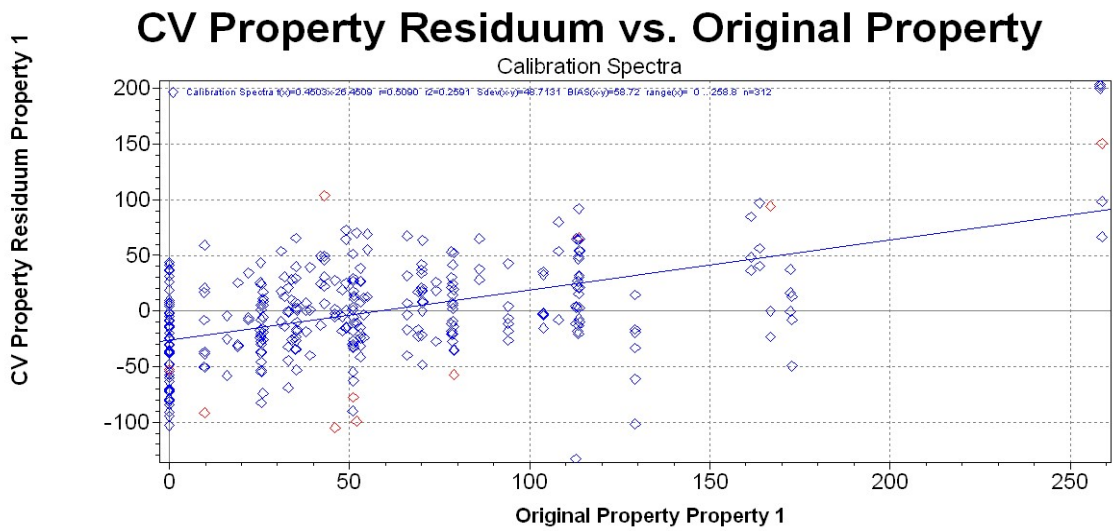


Figura 2. Valores predecidos de glifosato en muestras de miel vs concentración real de glifosato aplicando la calibración obtenida en Project 3 utilizando durante la validación el método de cross validation.

Tabla 2. Valores reales y predecidos del batch de petición utilizando en la validación el método de cross validation.

Predicción utilizando cross validation		
Valores predecidos	Promedio	Valor real
51		
19		
17	29	10
33		
-19		
35	16	21
47		
39		
88	58	32
-17		
-24		
-25	-22	39
-5		
22		
0	6	68
72		
2		
18	31	86
64		
45		
11	40	94
74		
93		
110	92	97
28		
120		
89	79	114
65		
138		
57	87	170

Con este trabajo se intentó clasificar las mieles en dos grandes conjuntos aquellas que contenían un nivel de glifosato menor a 50 ppb y otro conjunto con concentraciones mayores de 50 ppb. Tanto cuando se utiliza el método de set de validación como el método de cross validation existe un tercio de las muestras que quedan mal clasificadas. En estas condiciones no es posible recomendar la utilización de la tecnología NIR para la clasificación de mieles de acuerdo a su nivel de glifosato.