

Montevideo, 28 de junio de 2019.

Sr. Ariel Martínez

Presente

A continuación, se entrega el 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

Dr. Eduardo Boido

### Objetivos Específicos 1 y 2 (OE 1 y 2):

- 1- Comparar las diferentes alternativas analíticas disponibles y en desarrollo para la determinación de glifosato en miel tomando en cuenta:
  - a- Límite de detección y límite de cuantificación
  - b- Precisión y exactitud
  - c- Valor de equipamiento inicial
  - d- Costo estimado por análisis
  - e- Vida útil del equipamiento
  - f- Tipo y costos de los insumos utilizados en la preparación de muestra y en el transcurso de los análisis
  - g- Capacidad analítica diaria del equipamiento (tiempo por determinación y número de determinaciones analíticas que se pueden realizar por día)
  - h- Beneficios secundarios (accesibilidad del método, otros tipos de análisis que permite realizar)

Ponderación de los ítems antes mencionados a través de puntajes que se otorgan a cada uno

Ítem	a	b	c	d	e	f	g	h	Totales
Puntaje máximo	9	9	9	20	9	15	20	9	
1. Cromatografía iónica con Orbitrap	9	9	1	1	6	10	12	9	57
2. HPLC-MS/MS	9	9	1	2	6	10	12	9	58
3. HPLC-Fluorescencia	4	9	3	8	6	8	12	5	55
4. HPLC Iónico detector amperométrico	1	9	3	8	6	10	12	5	Descalificado por LD muy alto
5. Lector de placas ELISA	7	9	9	20	1	1	17	1	65
6. Lector de placas ELISA automatizado	7	9	5	20	1	1	20	1	64
7. NIR	2	9	5	20	9	15	10	9	79

a. En la tabla se muestran los límites de detección de las técnicas reportadas para el análisis de glifosato en miel. En el caso de NIR se considera el límite de cuantificación 50 ppb, pero aún está en etapa de validación.

Referencia	Metodología	LOQ
L. Pareja et al. Evaluation of glyphosate and AMPA in honey by water extraction followed by ion chromatography mass spectrometry. A pilot monitoring study. Analytical Methods 2019, 11, 2123-2128	Cromatografía iónica y espectrometría de masa de alta resolución (IC-HRMS Q-Orbitrap)	Glifosato: 5 µg/kg Rango lineal 5-500 µg/kg AMPA: 20 µg/kg
L.M. Chiesa et al. Detection of glyphosate and its metabolites in food of animal origin based on ion-chromatography-high resolution mass spectrometry (IC-HRMS)	Cromatografía iónica y espectrometría de masa de alta resolución (IC-HRMS orbitrap analyses)	4.30-9.26 µg/kg
T.S.Thompson et al. Determination of glyphosate, AMPA, and glufosinate in honey by online solidphase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Food Additives & Contaminants, Part A 2019, 36, 434-446	Cromatografía líquida y espectrometría de masa (HPLC-MS/MS)	1 µg/kg
C.J. Berg et al. Glyphosate residue concentrations in honey attributed through geospatial analysis to proximity of large-scale agriculture and transfer off-site by bees. PLoS One 2018, 13, e0198876/1-18	Abraxis' ELISA	15 µg/L (15 ppb)
O. Zoller et al. Glyphosate residues in Swiss market foods: monitoring and risk evaluation. Food Additives & Contaminants, Part B: Surveillance 2018, 11, 83-91	Cromatografía líquida y espectrometría de masa (HPLC-MS/MS)	0.5-2.5 µg/kg
B. Li et al. Determination of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid Residues in Foods Using High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry. Chinese Journal of Chromatography 2007, 25, 486-490	Cromatografía líquida y espectrometría de masa (HPLC-MS/MS)	50 µg/kg

b. No se reporta esta información en los distintos métodos

c. Tabla de valores por equipamiento

Instrumento	Rango de precios
HPLC Fluorescencia	45000 - 64000
UPLC-MS/MS	240000
Cromatografo Ionico MS/MS	224000
Lectores de Placa	3800 - 5040
Lector de Placa Automatizado	33000
NIR	42300 - 80424

d. Se considera la mano de obra por la especialización requerida para el manejo del equipo y preparación de muestras. Así como también el mantenimiento requerido. En el caso de los sistemas de cromatografía líquida requiere una alta especialización su manipulación y un mantenimiento diferencial.

e. Se considera una vida útil de 10 años para los distintos sistemas se cromatografía líquida. Se consideró una vida útil de 4 años para los lectores de placa y 15 años para el NIR.

f. Para las técnicas de cromatografía líquida se requiere el uso de solventes de calidad alta, filtros de muestra y filtros de solvente, viales y columnas. En el caso de la técnica de fluorescencia además se requiere un reactivo derivatizante. Se calcula un costo por análisis de 1,5 dólares por muestra y 2 dólares para fluorescencia. En el caso de ELISA se requiere la compra de un KIT con un costo de 710 dólares que sirve para 44 muestras (analizando por duplicado las muestras y haciendo una curva de calibración de 10 puntos). Se necesita un diluyente específico que tiene un costo por placa de 100 dólares. Se calcula un costo por análisis de 19 dólares por muestra. En el caso de NIR no tiene costo asociado

g. Para las técnicas de cromatografía líquida (1. 2. 3. y 4.) se calculó una capacidad analítica de 72 muestras por día (8 horas de trabajo) que se pueden ampliar al triple si se utiliza un inyector automático (210 muestras /día). En el caso de técnica de ELISA (5. y 6.) cada placa tiene una capacidad de 44 muestras y un tiempo de desarrollo de 3 horas, por lo tanto, en el equipo manual se pueden analizar 88 muestras en una jornada de 8 horas, en el semiautomático 132. Para aumentar la capacidad de análisis necesita realizarse más turnos de trabajo, aunque se está desarrollando un equipo totalmente automático (aún no disponible en el mercado). La técnica de NIR permite un análisis de 56 muestras por día (jornada de 8 horas) pudiendo ampliarse si se utiliza un muestreador automático, pasando a 168 muestras por día. Los puntajes para la tabla se otorgaron tomando en cuenta jornadas laborales de 8 horas

### **Conclusión OE 1 y 2:**

Para los elementos de juicio solicitados y a partir de la tabla de comparación de técnicas y equipos resultante, es posible sugerir como mejores opciones al sistema de lector de placas ELISA y el dispositivo de medida que utiliza radiación infrarroja en el espectro cercano (NIR).

Se debe tener en cuenta, como salvedad, que al momento de presentar este informe se encuentra pendiente la etapa final de validación para el sistema que trabaja en la modalidad de NIR. Lo que determina que, en caso de no obtener resultados más eficientes como se presupone, automáticamente la sugerencia resultante de este trabajo para el mejor equipo corresponderá al sistema de lector de placas ELISA.

En cualquier caso, el resultado final del desarrollo correspondiente a la validación del sistema por NIR será presentado en un Anexo posterior a la entrega de este informe.

### **Objetivo Específico 3 (OE 3)**

Se presenta la selección dentro de las marcas representadas en nuestro País para los equipamientos seleccionados en los OE 1 y 2:

Esta selección se realizará por separado para cada uno de los dos equipamientos.

#### **Evaluación de equipo NIR:**

- a- Posibilidades que brinda el Software del equipo (factibilidad de realizar calibraciones, facilidad de uso, entrenamiento requerido)
- b- Posibilidades que brinda la celda de medida (materiales, cantidad con que viene el equipo, costo de sustitución)
- c- Costo del equipamiento
- d- Garantía y asistencia postventa que se ofrece en el país
- e- Capacitación que se brinda al momento de obtener el equipo
- f- Cantidad de equipos similares existentes en el País

Ponderación de parámetros antes mencionados:

Ítem	a	b	c	d	e	f	Totales
Puntaje máximo	15	15	20	25	15	10	
Perkin Elmer	15	15	20	25	12	10	97
Thermo Scientific	15	12	18	25	12	8	90
Partner	15	15	12	25	12	3	82
Büchi	15	8	5	25	15	8	76

En la tabla siguiente se presentan los precios CIF Montevideo de los equipos evaluados en esta etapa:

Empresa	Marca	Modelo	Origen	Precio
Aldenor	Perkin Elmer	Spectrum 2N	USA	42300
Tecnofrom	Thermo Scientific	Antaris II FT NIR analyser	USA	48750
Dexin	Partner	DA 7250 GP	Suecia	54000
Biocer	Büchi	NIRFlex N-500	Suiza	80424

#### Evaluación del equipo Lector de Placas ELISA:

- a- Costo del equipamiento
- b- Garantía y asistencia postventa que se ofrece en el país
- c- Capacitación que se brinda al momento de obtener el equipo
- d- Cantidad de equipos similares existentes en el País

Ponderación de parámetros antes mencionados:

Ítem	a	b	c	d	Totales
Puntaje máximo	30	25	25	20	
Awareness	30	25	25	20	100
Thermo Scientific	20	25	25	18	88
MRC UT2100C	10	25	25	18	78
MRC UT6100	20	25	25	18	88

En la tabla siguiente se presentan los precios CIF Montevideo de los equipos evaluados en esta etapa:

Empresa	Marca	Modelo	Origen	Precio	Observaciones
Bioten SRL	Awareness	Chromate	USA	3800	Necesita PC
Biriden	ThermoScientific	MultiSkandFC	Finlandia	5269	Necesita PC
Biosistemas	MRC	UT2100C	Israel	5940	Necesita PC y software (680 dólares)
Biosistemas	MRC	UT6100	Israel	5040	Necesita PC

**Conclusión OE 3:**

De acuerdo a las tablas de ponderación previamente presentadas se concluye que en el caso de la compra de un equipo NIR se recomienda la compra del equipo NIR **Perkin Elmer Spectrum 2N**, mientras que en el caso de requerirse la compra del Lector de Placas Elisa se recomienda la compra del equipo **Awareness Chromate**.