

MANAZZI IRAOLA, MELINA BELEP

Delveo rancos del pascapal oobolito del pilloato, acido en rancosilfobiois, en lortiz.

75358

2015 **75358**



**FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO**

**DETERMINACIÓN DEL PRINCIPAL METABOLITO
DEL GLIFOSATO, ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO, EN
HARINA DE TRIGO PARA
PANIFICACIÓN**

Med. Vet. Melina Belen Menazzi Iraola

TESIS PRESENTADA
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAGISTER EN INOCUIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA

808.5

Año 2015



Faint, illegible text, possibly a title or header, located in the upper half of the page.

75358

MFN:
Clasif:
T. 1049

Faint text located below the MFN/Clasif section.



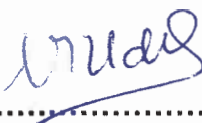
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO

DETERMINACIÓN DEL PRINCIPAL METABOLITO
DEL GLIFOSATO, ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO, EN
HARINA DE TRIGO PARA
PANIFICACIÓN

.....
Med. Vet. Melina Belen
Menazzi Iraola
Tesisista


.....
Lic. MSc. Alicia Weyers
Directora

.....
Prof. Mgter Sergio
Marcelo Picco
Jurado


.....
Prof. Mgter Laura
Ines Ugnia
Jurado

.....
Prof. Dra Carina
Elizabeth Magnoli
Jurado

AGRADECIMIENTOS:

A Alicia por su increíble paciencia, comprensión, dedicación y excelencia.

A Claudia por su ayuda en el laboratorio.

A toda la cátedra de salud pública por el aliento y la buena predisposición.

A Gabriel Salas, director de la empresa Millan S.A quien permitió la toma de muestra.

A mis amigos por el apoyo.

A mi familia; a mi mama por la incondicional ayuda, a mi papa por el aliento, a mi hermana por las horas de tesis compartidas, a mi esposo por entenderme y acompañarme, a mis hijas por aceptar que mama tiene que trabajar en la compu.

MUY AGRADECIDA!!!!

INDICE

RESUMEN

ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN

I.1. El trigo en la agricultura Argentina comparación mundial.

I.1.1 Localización del cultivo.

I.1.2 Manejo del cultivo de trigo.

I.1.2.1. Caracterización de los sistemas de producción.

I.1.2.2 Manejo de malezas.

I.2 .Generalidades de trigo para consumo.

I.2.1.Estructura del grano.

I.2.2.Composición del grano.

I.2.3. Producción argentina de trigo pan.

I.2.4. Industria molinera.

I.2.5. Composición química de la harina.

I.2.6. Elaboración de pan historia y actualidad.

I.3 Características generales del glifosato y su metabolito AMPA.

I.3.1 Mecanismos de acción.

I.3.2 Descomposición de Glifosato, formación de AMPA

I.3.2.1 Comportamiento y persistencia del glifosato/AMPA

I.3.2.2 Toxicidad.

I.3.3 Glifosato/AMPA como contaminante.

I.3.3.1 Residuos de xenobioticos en alimentos.

I.3.3.2 Residuos de glifosato/AMPA

I.3.4 Legislación

II. HIPÓTESIS

III. OBJETIVO

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1 Materiales.

IV.1.1 Laboratorio.

IV.1.2 Equipamiento.

IV.1.2.1 Instrumental Específico.

IV.1.2.2 Drogas y Solventes.

IV.2 Método.

IV.2.1 Muestreo.

IV.2.1.1 Zona de estudio.

IV.2.1.2 Extracción de la muestra.

IV.2.1.3 Preparación de la muestra.

IV.2.2 Determinación de AMPA.

IV.2.2.1 Derivatización.

IV.2.2.2 Elución de muestras por HPLC.

**IV.2.3 Validación del método para la determinación de AMPA en
harina de trigo.**

IV.2.3.1 Especificidad.

IV.2.3.2 Límite de detección y cuantificación

IV.2.3.3 Linealidad.

IV.2.3.4 Precisión.

IV.2.3.4.1-Repetibilidad.

IV.2.3.4.2-Reproducibilidad.

IV.2.3.5 Recuperabilidad.

V. RESULTADOS

**V. 1. Validación del método para la determinación de AMPA en harina
de trigo.**

V.1.1 Especificidad.

V.1.2 Límite de detección y cuantificación

V.1.3 Linealidad.

V.1.4 Precisión

V.1.4.1 Repetibilidad.

V.1.4.2 Reproducibilidad.

V.1.5 Recuperabilidad.

VI. ANÁLISIS DE DATOS

VII. DISCUSIÓN

VII.1 Método para la determinación de AMPA en harina de trigo.

VI.1.1 Clean up de la muestra.

VII.1.2 Cuantificación de AMPA.

VII.2 Valores hallados.

VIII. CONCLUSION Y PERSPECTIVAS

VIII.1 Del método.

VIII. 2 De los Valores hallados.

IX. BIBLIOGRAFIA

RESUMEN

En la actualidad los avances tecnológicos superan ampliamente los sistemas de control de los mismos. La introducción de técnicas, instrumentos y moléculas por parte de la ciencia a la vida cotidiana se produce en forma diaria y los alcances de las investigaciones para determinar su impacto resultan muy limitados. El glifosato es un herbicida no selectivo de amplio espectro que desde el comienzo de su comercialización se ha promocionado con toxicidad relativamente baja en mamíferos, y se ha convertido en uno de los herbicidas más utilizados en el mundo. Por otra parte numerosos estudios evidencian lo contrario y ubican tanto al glifosato como a su principal metabolito, el ácidoaminometilfosfónico (AMPA), como causante de daño celular y de desequilibrios en muchos ambientes. El trigo fue el cultivo que aseguró la fundación de las civilizaciones occidentales, muy dependientes de una base cerealera para su abastecimiento. Se convirtió así en la principal fuente de nutrientes de sus dietas. La Argentina es un importante productor de trigo pan. Los laboreos de la siembra convencional se suplantaron en la actualidad con el barbecho químico para el cual se utiliza el glifosato como herbicida de elección. En el presente trabajo se cuantificaron los niveles de AMPA en muestras de harina de trigo utilizada en la elaboración de productos de panificación comercializados en ciudades del sur de la provincia de Córdoba, Argentina. La metodología empleada consistió en extracción del analito, derivatización con cloruro de p-toluensulfónico y elución por HPLC en fase reversa, fase móvil compuesta por 0,06 M KH_2PO_4 , (ajustado a pH 2,3) y acetonitrilo 85:15 (v/v), velocidad de flujo de 1 ml/minuto y detección por UV a una longitud de onda de 240 nm. Los resultados muestran valores de residuos que varían entre 0,88 y 12,93 ppm de AMPA. De acuerdo a los datos obtenidos, la población consumidora de panificados se encuentra en riesgo de presentar toxicidad a largo plazo debido al consumo de harinas con residuos de este metabolito, creando una necesidad de continuar con esta línea de investigación y de establecer, en un futuro no muy alejado, regulaciones respecto a los niveles máximos permitidos.

**ACIDO AMINOMETILFOSFONICO (AMPA) DETERMINATION, THE
MAIN METABOLITE OF GLYPHOSATE, WHEAT FLOUR FOR BAKERY**

ABSTRACT

At present technological advances outweigh its control systems. The introduction of techniques, tools and molecules by science to everyday life occurs daily and the investigations to determine their impact are very limited. Glyphosate is a non-selective broad spectrum herbicide that since the beginning of its marketing has been promoted with relatively low mammalian toxicity, and has become one of the most widely used herbicides in the world. Moreover numerous studies show the opposite and located both glyphosate and its major metabolite, aminomethylphosphonic acid (AMPA), to cause cellular damage and imbalances in many environments. Wheat was the crop that guaranteed the foundation of western civilization, so dependent on a cereal base for its supply and became the main source of nutrients of their diets. Argentina is a major producer of wheat bread. The conventional agronomic tillage is supplanted today by chemical fallow using glyphosate as the favorite herbicide. In this paper AMPA levels were measured in samples of wheat flour used in the production of bakery products commercialized in southern cities of Cordoba province, Argentina. The methodology consisted in analyte extraction, derivatization with p-toluenesulfonic acid chloride and HPLC elution by reverse phase, mobile phase consisting of 0.06 M KH₂PO₄ (adjusted to pH 2.3) and acetonitrile 85:15 v / v, speed flow 1 ml / min and UV detection at a wavelength of 240 nm. The results show residue values ranging between 0.88 and 12.93 ppm of AMPA. According to the data obtained, the consumers of bakery products are in chronic toxicity risk, due to the ingest of this metabolite residues in flour, creating a need to continue this line of research and to establish in the future, regulations regarding the maximum levels permitted.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la tecnología avanza a pasos agigantados, superando ampliamente los sistemas de control de las mismas. La introducción de técnicas, instrumentos y moléculas por parte de la ciencia a la vida cotidiana se produce de forma diaria, si bien existen sistemas que regulan estos avances, está comprobado que los alcances de los estudios realizados para la aprobación de los mismos es muy limitado.

Numerosos fármacos autorizados para diferentes padecimientos, luego de su comercialización y uso masivo se comprueba que son los causantes de reacciones adversas no tenidas en cuenta por los fabricantes, tal es el caso de talidomida comercializada por una compañía alemana, Chemie Gruenthal en 1954. El destino definitivo del fármaco fue para tratar las náuseas, la ansiedad, el insomnio y los vómitos matutinos de las preñadas. La empresa realizó experimentos con la talidomida en monos, un paso indispensable para la evaluación del fármaco antes de ser aplicado en el ser humano, y no se encontraron efectos secundarios. Tampoco en conejas, ratas y perras embarazadas a las que se les suministró el medicamento durante varias semanas. Mucho más tarde se descubriría que los animales recibieron la talidomida en un periodo de tiempo equivocado y/o en dosis tan grandes que los fetos habían muerto. Tres años más tarde del descubrimiento, en 1957, la Talidomida se convirtió en el medicamento de elección para ayudar a las embarazadas. Su uso se extendió rápidamente al año siguiente y se introdujo en varios países de Europa, África, América y también en Australia. Sin embargo, un año antes de que se comercializara internacionalmente (1956), nació el primer niño con las consecuencias de la talidomida. Claro que por aquel entonces no se tenía ninguna sospecha (Chávez Viamontes et al., 2009). Al principio no supieron a qué se debían las malformaciones neonatales, plantearon explicaciones medioambientales, infecciones, rayos x, sustancias tóxicas, etc. No fue hasta el 11 de noviembre de 1961 cuando, el doctor Lenz vio con claridad que la culpable de todas esas malformaciones era la talidomida. Después ser prohibida y retirada del

mercado en 1962, las consecuencias de la talidomida fueron más de 10 000 casos de malformados, de los cuales falleció aproximadamente el 15 por ciento (Diggle G., 2001).

Esta breve reseña histórica sobre un problema que sufrieron miles de personas, nos lleva a replantearnos las medidas regulatorias y los problemas que surgen después de introducir una nueva molécula de uso frecuente, no solo a la humanidad de forma directa, sino las repercusiones indirectas que trae liberar al medio moléculas que no tienen control al existir tantos microambientes y reacciones químicas posibles.

El glifosato es un herbicida no selectivo de amplio espectro. Se lo ubica en un puesto de casi inocuidad (OMS, 2009), y sumado a que desde el comienzo de su comercialización este producto se promociona con toxicidad relativamente baja en mamíferos, y se ha convertido en uno de los herbicidas más utilizados en el mundo, (Borggaard y Gimsing, 2008). Por otra parte numerosos estudios evidencian lo contrario y ponen tanto al glifosato como a su principal metabolito, el ácido aminometilfosfónico (AMPA), como causante de desequilibrios en muchos ambientes, (Carballo y Mudry, 2006; Carrasco et al., 2010; Casabé et al., 2007; Dallegrave et al., 2003; Mamy et al., 2010; Simoniello et al., 2007, 2008).

La legislación actual evalúa periódicamente materias primas y alimentos de forma regulatoria. Planes dirigidos por la Secretaria de Agricultura Ganadería Pesca y Alimentos de la Nación (MAGyA) tal como el Control de Residuos e Higiene en Alimentos CREHA (MAGyA, 2014) tienen la función de monitoreo de plaguicidas en productos derivados de animales pero no se incluye al glifosato como así tampoco al AMPA. El SICOFHOR es el sistema de control de productos frutihortícolas que funciona dirigido por el SENASA monitoreando residuos de plaguicidas en frutas y vegetales pero tampoco incluye al glifosato y sus metabolitos en sus listas de elementos a detectar (SICOFHOR, 2001).

La causa podría deberse a la dificultad de las técnicas de detección, o a su inconstante comportamiento químico en distintos sustratos, pero la realidad es que en la Argentina es posible comercializar productos alimenticios con altos niveles

de pesticidas sin ningún tipo de control, presentando un alto riesgo hoy en día para los consumidores.

En nuestro país los límites máximos de residuos tienen en cuenta principalmente las normativas y convenciones establecidas por el Codex Alimentarius (Codex, 2010) y otros organismos de FAO OMS. La reunión conjunta FAO/OMS sobre residuos de plaguicidas (JMPR) está integrada por el grupo básico de evaluación de la OMS y el cuadro de expertos de la FAO sobre residuos de plaguicidas en los alimentos y el medio ambiente.

Para trigo el límite máximo de glifosato y su metabolito AMPA según resolución N° 507/08 aprobada en 2008 por SAGPyA-SENASA (SAGPyA, 2008) tiene como valor 5mg/kg.

1.1. El trigo en la agricultura Argentina y el contexto mundial

La demanda global de alimentos ha experimentado grandes cambios en los últimos años, la población mundial pasó de 5.702 millones en 1995 a 7.024 millones en 2010, con tasas de crecimiento en constante aumento. Hasta el año 1650 la tasa media de crecimiento de la población mundial fue de 0,5 % por siglo, y solo en el año 1996 fue de 1,5 % (Salustiano del Campo, 1996). El aumento general de la demanda de alimentos experimentado en las últimas décadas, sumado al incremento en la demanda de proteínas de origen vegetal, ha generado un escenario de oportunidades para el sistema agroalimentario que la Argentina está aprovechando como país agroproductor y exportador de materias primas e insumos agrícolas. Economías de países como China e India han crecido a elevadas tasas en los últimos diez años, provocando mejoras en la calidad de vida de la población que pasa a demandar alimentos ricos en energía y proteínas (FAO, 1996). La Argentina se encuentra entonces en una posición inigualable por su gran competitividad en la producción de alimentos, ya que suma a su ambiente favorable el haber incorporado las más avanzadas tecnologías de producción y gestión.

Dentro del sector agrícola, la Argentina se destaca en cuatro cultivos: soja, girasol, maíz y trigo. En diferentes momentos de la historia, fue decimo productor mundial de trigo; quinto exportador, sexto productor y segundo exportador mundial de maíz; tercer productor y exportador de girasol y soja en grano; tercer productor mundial de aceite y harina de soja y primer exportador mundial de aceite y harinas de girasol y soja (INDEC, 2013).

Hoy en día debido a políticas gubernamentales las exportaciones están considerablemente disminuidas.

1.1.1 Localización del cultivo

En la Argentina el cultivo de trigo se localiza en el centro este del país, y en el norte con menor producción (Anexo 1). Las áreas de mayor rendimiento coinciden con las de mayores índices hídricos, este índice relaciona precipitaciones de la zona con la evaporación y permite una clasificación en zonas áridas, semiáridas, subhúmedas y húmedas según su Índice Hídrico de Thornthwaite (IHT) (Font Tullot, 2000). Si tomamos esta clasificación, las áreas donde se cultiva el trigo se denominan sub-húmedas y húmedas con IHT mayores que 0,2 y menores que 0,5 y IHT mayores que 0,5 y menores que 0,75 respectivamente. Estas características se observan en las provincias de Buenos Aires, Entre Ríos, Santa Fe y sur de Córdoba (UNESCO, 2010).

1.1.2 Manejo del cultivo de trigo

La época de siembra varía según las zonas. En nuestro país la mayor parte de las siembras se efectúan en junio, julio, agosto y la cosecha se realiza a mediados de noviembre y en los meses de diciembre y enero. El trigo está apto para ser cosechado cuando los granos han acumulado el máximo de materia seca y la humedad ha descendido a niveles lo suficientemente bajos como para permitir una fácil separación entre el grano y la espiga. Las cosechadoras siegan las plantas a una altura de 10-20 cm sobre la superficie del suelo y separan el grano de la espiga y la paja. Luego de la cosecha se procede al secado del grano. El

secado consiste en eliminar, mediante convección forzada de aire calentado o sin calentar, el exceso de humedad para prevenir el deterioro de la cosecha durante el almacenado. El trigo destinado a molturación no debe ser secado a temperaturas superiores a 66 °C para evitar alteraciones en las proteínas. El grano se cosecha generalmente una vez al año y en algunas zonas tropicales dos. No obstante, se consume durante todo el año gracias a un correcto almacenado. El trigo es almacenado en bolsas o en silos a granel, donde se conserva durante largos periodos evitando que se produzcan alteraciones en sus propiedades. Según la zona, se recomiendan niveles de humedad máxima del 17 % para almacenados de cuatro semanas y de 14% para almacenados de más de seis meses, a temperaturas de 18 °C en sacos apilados o a granel. Mediante circulación forzada de aire (ventilación) se consigue refrigerar el grano manteniéndolo en condiciones adecuadas (INTA, 1997).

Un método muy utilizado en la actualidad es almacenar los granos en el mismo lote donde se está cosechando, en bolsas o silo bolsas. El proceso de llenado de la bolsa se realiza por medio de una máquina. Una vez almacenado el grano en las bolsas, el proceso respiratorio consume el poco oxígeno que queda, lo que produce un ambiente de alta concentración de dióxido de carbono que, al no ingresar aire externo, inhibe los procesos respiratorios de los granos. Es esta atmósfera, que se mantiene estable en el tiempo, la que impide el desarrollo de hongos e insectos, así como también el aumento de la temperatura de los granos, problema común en el almacenado en silos o sacos (INTA, 2014).

1.1.2.1. Caracterización de los sistemas de producción

La agricultura se caracteriza por ser principalmente extensiva en la que coexisten diferentes formas de producción, con diferencias en el manejo de plagas, esquemas de fertilización y de rotación, pero la diferencia más notoria radica en la siembra, que puede ser convencional o directa.

En la siembra convencional se utilizan variados implementos mecánicos como arados, discos y rastras donde se rotura el suelo y se prepara la cama de

siembra para luego colocar la semilla. La siembra directa, por su parte, es un sistema de conservación que deja sobre la superficie del suelo el rastrojo del cultivo anterior. No se realiza movimiento importante de suelo excepto el movimiento que efectúan los discos cortadores de la sembradora al abrir el surco donde se localizará la semilla (AAPRESID, 2014).

La siembra directa permite producir sin degradar el suelo, mejorando en muchos casos las condiciones físicas, químicas y biológicas del mismo, pero como los laboreos del suelo se minimizan, se incorporan los herbicidas a los sistemas, como otra manera de controlar la aparición de malezas (AAPRESID, 2012).

La labranza cero fue un sistema que se adoptó a gran escala por sus ventajas económicas y agronómicas, pero sin duda la introducción a los sistemas de los cultivos genéticamente modificados ha facilitado su utilización y permitido su expansión. La evolución de la superficie bajo siembra directa para los principales cultivos de la Argentina en los últimos 30 años se incrementó en forma exponencial. Actualmente, más del 70% de la agricultura argentina se realiza bajo el sistema de siembra directa y se prevé que esta proporción continúe aumentando fuertemente (AAPRESID, 2012).

1.1.2.2 Manejo de malezas

Las principales prácticas agrarias de las diferentes zonas Argentinas son: cultivos de maíz, soja transgénica, trigo, girasol y en menor medida, pasturas anuales y perennes. Los plaguicidas más utilizados son, en orden de consumo: Herbicidas 64%, (dentro de ellos el principio activo Glifosato representa más de la mitad del consumo), Insecticidas 16 %, fungicidas 12%, curasemillas 5 % y Acaricidas 1% (CASAFE, 2012).

El control químico de las malezas se puede realizar mediante aplicaciones de pre-emergencia y aplicaciones de post-emergencia. En el primer caso, las aplicaciones son realizadas inmediatamente luego de la siembra del cultivo y antes de la emergencia de las malezas, debiendo ser realizada con el suelo húmedo. En el segundo caso, la aplicación se efectúa luego de la germinación del

cultivo y de las malezas, y el control es más eficiente cuanto más jóvenes son las malezas para las cuales se aplica el herbicida (Dow AgroSciences, 2013).

Los laboreos de la siembra convencional se suplantaron en la actualidad con el barbecho químico para el cual se utiliza el glifosato como herbicida de elección (Arregui et al., 2004). El procedimiento consiste en eliminar las malezas que consumen agua y nutrientes antes de la siembra, para que la semilla se implante en mejores condiciones. El glifosato puede ser utilizado en tierra no laboreada, y en una gran variedad de cultivos. Para los barbechos químicos se realizan entre una y tres aplicaciones previas a la siembra, dependiendo del tipo y largo del barbecho. Se debe aplicar post-emergencia ya que ingresa por el follaje y se mueve por xilema y floema (FAO, 2013).

Si bien el trigo es susceptible a la acción herbicida del glifosato, su uso en este cultivo está documentado. Algunas formulaciones de 2,4-D y de glifosato vienen rotuladas para aplicaciones de pre-cosecha en trigo. Al respecto se señala que las aplicaciones tardías de 2,4-D pueden ser hechas después que la planta ha alcanzado el estado de masa dura (la impresión del pulgar permanece en el grano) (Mellado y Pedreros, 2005). El glifosato se puede usar para controlar malezas en pre cosecha, cuando el grano tiene 30% o menos de humedad (Darwent et al., 1994). Este autor señala que al aplicar glifosato cuando el grano tiene 40% o menos de humedad, el rendimiento se afecta muy poco, o no se afecta, en tanto la germinación del grano y su calidad no disminuyen.

Con esta práctica aumentarían los riesgos de consumir el herbicida y su metabolito, ya que la aplicación se realizaría previa a la cosecha y el producto tendría contacto directo con el grano.

1.2 .Generalidades de trigo para consumo

El trigo fue el cultivo que aseguró la fundación de las civilizaciones occidentales, muy dependientes de una base cerealera para su abastecimiento. Se convirtió así en la principal fuente de nutrientes de sus dietas (Moreno, 2009).

Es un cereal perteneciente a la familia de las gramíneas. Existen innumerables variedades de trigo. La mayoría de las variedades cultivadas pertenecen a las especies:

Triticum durum, trigo duro: tiene mayor fragilidad en la molturación, fraccionándose de una forma más o menos regular. Dan lugar a harinas o sémolas gruesas destinadas a la fabricación de pastas alimenticias.

Triticum aestivum, trigo blando: sus granos se fraccionan de forma aleatoria, irregular, dando lugar a harinas muy finas utilizadas para la panificación (Anexo 2).

El trigo candeal (*Triticum turgidum*, spp. *durum* L) y el trigo pan (*Triticum aestivum*) se diferencian genéticamente, el trigo candeal es un individuo tetraploide (es decir, posee 4 juegos de los 7 cromosomas básicos, o sea un total de 28 cromosomas por célula), mientras que el trigo pan, es un individuo hexaploide (con 42 cromosomas por célula).

1.2.1. Estructura del grano

El grano está formado por una semilla cubierta por el pericarpio (salvado) que se encuentra fuertemente adherido.

Los granos de trigo son redondeados en la parte dorsal (mismo lado del germen) y posee un surco a lo largo de la parte ventral (lado opuesto al germen). El surco, que abarca aproximadamente toda la longitud del grano, penetra casi hasta el centro.

Los dos carrillos pueden llegar a tocarse ocultando así la verdadera profundidad del surco. Este surco, no solamente representa una dificultad para que el molinero separe el salvado del endospermo con buen rendimiento, sino que también constituye un buen reservorio para microorganismos y polvos. En un corte longitudinal del grano de trigo podemos observar las diferentes partes (Figura 1).

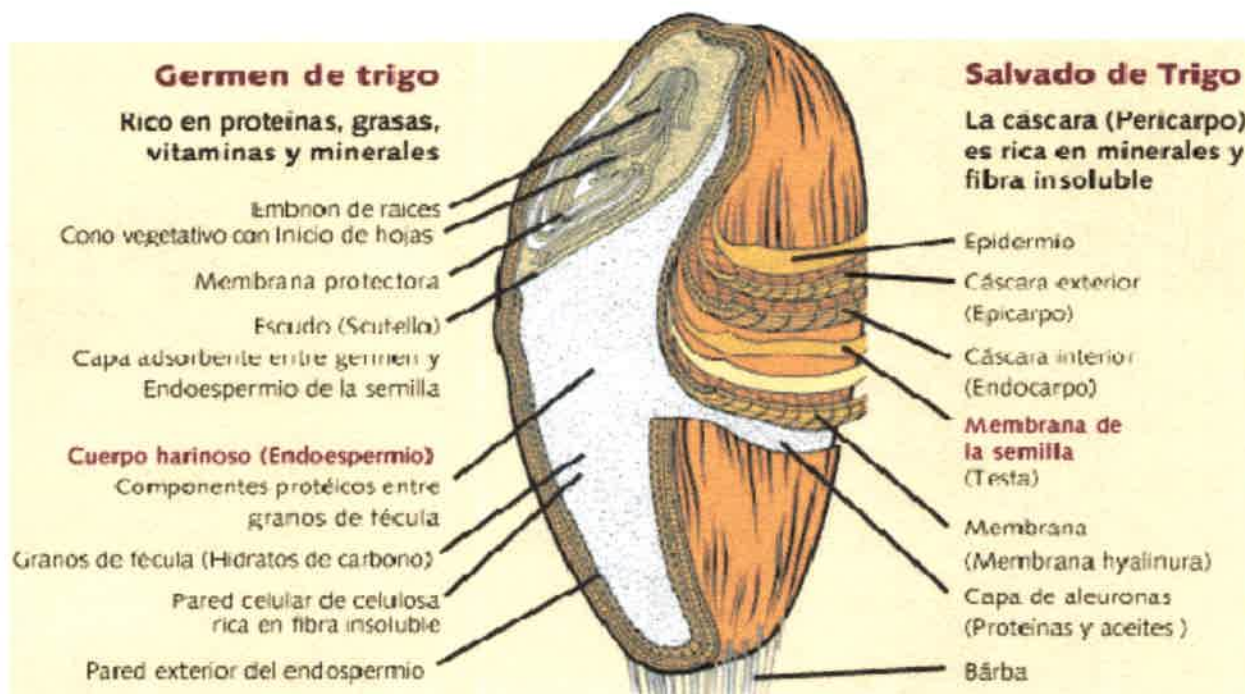


Figura 1- Corte longitudinal del grano de trigo. Fuente: Wheal Flour Institute, Chicago, 1964.

- Pericarpio

El pericarpio rodea toda la semilla y está constituido por varias capas.

- Cubierta de la semilla y epidermis nucelar

La cubierta de la semilla está unida firmemente a las células tubulares por su lado exterior y a la epidermis nucelar por el interior.

-Capa de aleurona

La capa de aleurona, que por lo general tiene el espesor de la célula, rodea el grano por completo, es relativamente rica en cenizas, proteínas, fósforo total y fósforo de fitatos, grasa y niacina. Además la aleurona es más rica en tiamina y riboflavina que otras partes del salvado y su actividad enzimática es alta.

-Germen o embrión

El germen de trigo abarca el 2,5 - 3,5 % del grano.

-Endospermio

El contenido y las paredes celulares de las células del endospermo constituyen la harina. Las células están repletas de gránulos de almidón incluidos en una matriz proteica.

Las paredes celulares del endospermo, están formadas por pentosanos, otras hemicelulosas y b-glucanas, pero no por celulosa. El espesor de las paredes celulares varía con la posición en el grano; son más gruesas cerca de la aleurona. El espesor de las paredes celulares del endospermo determina el porcentaje de hemicelulosas contenidas en las mismas (Garza, 2001).

I.2.2.Composición del grano

El grano de trigo se puede considerar fundamentalmente compuesto por almidón, proteínas, otros polisacáridos, lípidos, minerales y vitaminas (Leon y Rossell, 2007).

Almidón

El almidón se encuentra en el trigo en forma de gránulos. En los cereales y en otras plantas superiores, los gránulos se forman en plastidios. Estos plastidios que forman el almidón se llaman amiloplastos. El almidón está constituido básicamente por polímeros de á-D-glucosa.

Proteínas

Osborne en 1907 separó las proteínas del trigo en cuatro fracciones valiéndose de sus solubilidades:

- Albúminas: Proteínas solubles en agua.
- Globulinas: Proteínas insolubles en agua pura, pero solubles en disoluciones salinas diluidas e insolubles a altas concentraciones.
- Prolaminas: Proteínas solubles en alcohol etílico al 70 %.
- Glutelinas: Proteínas solubles en ácidos o bases diluidas.

Las proteínas de reserva del trigo son únicas, porque son también proteínas funcionales. No poseen actividad enzimática, pero tienen la facultad de formar una masa que retendrá gas y rendirá productos horneados esponjosos.

El contenido proteico es importante por dos motivos: en primer lugar, la proteína es un nutriente valioso en nuestra dieta, por lo que el tipo y cantidad de proteína es importante desde el punto de vista de la nutrición y en segundo lugar la cantidad y tipo de proteína es importante desde el punto de vista tecnológico en la utilización de la harina.

Se atribuye fundamentalmente a las proteínas de reserva del trigo la habilidad de formar una masa fuerte, cohesiva, capaz de retener gas y rendir por cocción un producto esponjoso. Solo la harina de trigo con la adición de agua, forma una masa viscoelástica, cohesiva, que se puede trabajar (amasar). El gluten resultante es el responsable de la plasticidad y elasticidad de la masa.

Lípidos

La distribución de lípidos dentro del grano de trigo es muy variable. Los lípidos del trigo total contienen un 70 % de lípidos no polares, 20 % de glicolípidos y 10 % de fosfolípidos. El germen tiene la mayor cantidad de lípidos, y los lípidos del germen tienen el mayor porcentaje de fosfolípidos. Los lípidos polares del salvado, contienen más fosfolípidos que glicolípidos, mientras que los lípidos del endospermo contienen más glicolípidos que fosfolípidos.

Claramente, los fosfolípidos constituyen la mayor parte de los lípidos asociados al almidón; la lisofosfatidilcolina ocupa un gran porcentaje de los fosfolípidos del almidón.

Minerales

Estos constituyentes se localizan, en su mayor parte, en el pericarpio. Los más importantes son: calcio, fósforo, hierro, magnesio y potasio. Una parte importante del fósforo presente se encuentra combinado con el mio-inositol, formando el ácido fítico, cuyas sales de calcio y magnesio constituyen la fitina. Estos compuestos se combinan con numerosos iones, disminuyendo drásticamente la asimilación de los mismos.

Vitaminas

El trigo es una importante fuente de vitaminas del grupo B y de vitamina E.

I.2.3. Producción argentina de trigo pan

En el período 2007/08 Argentina logró ubicarse entre los diez principales países productores del mundo. Sin embargo, las sucesivas cosechas no lograron posicionar nuevamente al país en ese lugar (FAS-USDA, 2011).

Durante la campaña 2010/11 las cinco principales provincias productoras fueron Buenos Aires (60,4%), Santa Fe (12%), Córdoba (11,7%), Entre Ríos (7,4%) y Chaco (2,2%). Si se analizan las producciones de 10 años a esta parte, Buenos Aires siempre aportó el mayor volumen de la producción nacional de trigo pan (INTA, 2014).

La producción de trigo pan promedio para las últimas diez campañas ha sido de 13,5 millones de toneladas anuales (Anexo 3).

El área sembrada tiene una tendencia decreciente, ha disminuido un 38,5 % entre los años 2001 y 2011 pasando de 7 millones a 4,3 millones de hectáreas sembradas, el rendimiento del cultivo en la campaña 2010/11 ha sido el más alto de la década (3.404 Kg/ ha). Cabe remarcar que en la campaña 2010/2011 la producción creció notablemente, volviendo a superar los 14 millones de toneladas de 2001/02 (Lezcano, 2011).

Debido a que Argentina es autosuficiente respecto a este cereal las importaciones de trigo pan han sido muy poco significativas en la historia del cultivo, tanto en volumen como en valor.

El volumen de trigo exportado durante los años 2002 a 2010 supera ampliamente al importado, por lo que este producto primario registra una balanza comercial superavitaria.

La cantidad de trigo pan que anualmente exporta Argentina está condicionada por el volumen de la cosecha y los requerimientos del consumo interno, que se estiman año a año, estableciéndose a partir de ahí el volumen que puede ser exportado.

En 2002, la exportación de trigo pan fue de 9 millones de toneladas, mientras en 2010, solamente lograron concretarse ventas por 4 millones de toneladas. El principal destino de estas exportaciones es históricamente Brasil. En

2010 las mismas representaron el 85,3% del volumen total exportado (Lezcano, 2011).

1.2.4. Industria molinera

El eslabón siguiente en la cadena es la industria de molinería que obtiene harina de consumo.

Según la legislación, la denominación de Harina, sin otro calificativo, se entiende el producto obtenido de la molienda del endosperma del grano de trigo. Los productos finamente triturados de otros cereales deberán llevar adicionados al nombre genérico de harina del grano del cual proceden (CAA, 2014).

En la industria molinera se recibe el trigo, tal y como se envía del campo y es sometido como primera medida a controles de calidad para determinar su humedad, impurezas etc. Ya en la línea de producción el trigo es pasado por tamices, corrientes de aire y dispositivos magnéticos para despojarlo de impurezas. Luego se lo clasifica, este mecanismo tiene como objetivo la separación de los granos por diferencia de longitud, allí se eliminan de la línea los granos de avena y cebada que puedan venir en la partida. Después de la clasificación se procede al cepillado del trigo para eliminar el polvo adherido. Finalmente se completa la limpieza con el lavado, que consiste en una ligera adición de agua. El objetivo de ésta es eliminar el polvo y barro que se encuentra en el surco del grano. Se realiza en lavadoras. En la lavadora deschinadora, el trigo se remueve en el agua con un tornillo sinfín. Las piedras y arena, que son más pesadas, caen al fondo, mientras que las impurezas ligeras (las semillas extrañas y los granos de trigo vacío) flotan y son evacuadas con el agua. El trigo pasa al secadero donde se elimina gran parte del agua por centrifugación, y el trigo queda aún húmedo para el acondicionado. El acondicionado consiste en añadir agua al grano y dejarlo reposar durante un periodo de tiempo, antes de molerlo. Se realiza con la finalidad de evitar la rotura del salvado y ablandar o suavizar el endospermo para facilitar la molturación. La molienda consiste en pasar el trigo por dos cilindros estriados, que giran en sentido contrario uno de otro

a diferentes velocidades, la rotura del grano se produce por la acción conjunta de compresión y cizalla (Leon y Rossell, 2007).

Las harinas destinadas a la industria de transformación para elaborar productos derivados (pan, bollería, pasta alimenticia etc.) son transportadas a granel o envasadas en sacos de yute, algodón, papel u otro material autorizado.

I.2.5. Composición química de la harina

Las harinas tipificadas comercialmente con los calificativos: cuatro ceros (0000), tres ceros (000), dos ceros (00), cero (0), medio cero (medio 0), harinilla de primera y harinilla de segunda, corresponderán a los productos que se obtienen de la molienda gradual y metódica del endosperma en cantidad de 70-80% del grano limpio (CAA, 2014).

Almidón

Es el elemento principal de la harina. En estado natural en la almendra harinosa del grano de trigo, se presenta bajo la forma de un polvo compuesto de granos de tallos diferentes (de 11 a 14 milésimas de mm de diámetro), no se disuelve en agua fría, ni en alcohol, ni en éter, por el contrario, calentado a una temperatura entre 55° C y 70° C, los granos de almidón estallan y se aglutinan, dando lugar a la gelatinización del mismo. En la elaboración del pan, el almidón proporciona gran parte de azúcares simples.

Gluten

El gluten como tal, no existe en el grano de trigo. En estado natural, en la almendra harinosa, se encuentran dos fracciones proteicas insolubles: la gliadina y la glutenina, que asociadas con el agua forman el gluten.

La glutenina está compuesta por cadenas proteicas con enlaces, que le dan a la masa la consistencia y resistencia, y la gliadina por cadenas proteicas sin enlaces, que le dan a la masa la viscosidad.

Azúcares simples

Su porcentaje es reducido en la composición de la harina, pero su papel es muy importante en el momento de la fermentación de la masa.



Grasas

Las materias grasas, provienen de unos residuos de la cáscara del germen, además, de localizarse en la almendra harinosa. En cualquier caso, los contenidos de materia grasa en la harina son muy reducidos.

Un exceso de materias grasas en una harina, puede acarrear problemas en su conservación, pues el ácido producido por la materia grasa rancia, reacciona con el gluten y lo degrada.

Minerales

En la harina, las materias minerales son poco significativas en su composición. No obstante, las más importantes son: el potasio, el fósforo, el magnesio y el azufre (bajo la forma de sales).

El contenido en materias minerales aumenta con el grado de extracción de la harina. Para determinar su porcentaje es necesario incinerar una muestra, a menor proporción de cenizas, mayor pureza de harina (UCO, 2010).

El Senado y Cámara de Diputados de la Nación Argentina en 2002 sancionan la Ley 25630 que tiene como objeto la prevención de las anemias y las malformaciones del tubo neural, tales como la anencefalia y la espina bífida (SENASA, 2002).

La deficiencia de hierro es la más relevante de las carencias de micronutrientes. (Olivares y Walter, 2004). La anemia afecta en todo el mundo a 1620 millones de personas, lo que corresponde al 24,8% de la población (OMS, 2008). Es por esta razón que en el año 1992, en la Conferencia Internacional de Nutrición en Roma, se estableció un compromiso "Proveer de la Ley para la fortificación de los alimentos, para asegurar un adecuado suministro de micronutrientes cuando la dieta no los provea" (FAO, 1992).

Actualmente países pertenecientes a América del Norte, México, América Central, el Caribe y Sudamérica se encuentran fortificando trigo y/o maíz con algunos micronutrientes, hierro y otras vitaminas como B1, B2, niacina y ácido Fólico (David, 2004).

La Ley Reglamentada por el Decreto 597/03 en la Argentina exige a los molinos el agregado de 5 nutrientes; "La harina de trigo destinada al consumo que se comercializa en el mercado de la Nación Argentina, será adicionada con hierro, ácido fólico, tiamina, riboflavina y niacina en las proporciones que a continuación se indican" (Tabla 1).

NUTRIENTES	FORMA DEL COMPUESTO (mg/kg)	NIVEL DE ADICION
Hierro	Sulfato ferroso	30
Acido fólico	Acido fólico	2,2
Tiamina (B1)	Mononitrato de tiamina	6,3
Riboflavina (B2)	Riboflavina	1,3
Niacina	Nicotinamida	13,0

Tabla 1: Nutrientes que se adicionan por decreto 597/03 a las harinas de trigo en la Argentina. Fuente: SENASA, 2013.

1.2.6. Elaboración de pan. Historia y actualidad

La historia del pan corre en paralelo a la del uso de los cereales por parte del hombre (desde el año 8.000 A.C.) (Leon y Rossell, 2007).

La industria de transformación elabora a partir de harina y/o sémola alimentos tan básicos en la alimentación humana como son el pan, pastas, tortas, galletitas etc.

El pan tradicional de panadería se obtiene a través de un proceso no automatizado, con bajos niveles de tecnificación y es intensivo en mano de obra. Por otro lado, el pan industrial incluye variedades de pan de molde y panes de bollería (pan para panchos, hamburguesas y otros), fabricados en plantas

industriales a través de líneas de producción automatizadas o semi automatizadas.

El consumo de pan está disminuyendo desde mediados del siglo XIX en los países en desarrollo (ha descendido un 70% desde 1880 hasta 1977). En la actualidad, existe preocupación por las diversas dietas hipocalóricas, que junto al recrudescimiento de enfermedades autoinmunes como la celiaquía (intolerancia al gluten), hacen que la visión popular que existía acerca del pan haya ido cambiando paulatinamente. Desde comienzos del siglo XXI, el 70% del pan que se consume en el mundo es de harina de trigo. La tendencia a consumir otros cereales fue disminuyendo, no obstante, en la década de 1990 aparecen panaderías artesanales en Europa que captan clientela deseosa del "sabor clásico" del pan. Se introducen los panes integrales debido a los beneficios de la fibra. A comienzos del siglo XXI se retorna al pan elaborado con harinas poco refinadas. En Estados Unidos se denomina a esta corriente Artisan Baking (panadería artesanal) y se convierte en una nueva tendencia (Lezcano, 2011).

En el país se producen unos 3,05 millones de toneladas anuales de productos panificados 94% corresponde al pan tradicional de panadería y 6% de pan industrial. En 2010 el consumo de trigo en Argentina ascendió a 3,8 millones de toneladas, de las cuales se estima que el 69,7% se utilizó en la elaboración de pan tradicional de panadería y pan industrial. Las ventas minoristas de pan industrial alcanzaron en Argentina los US\$ 361 millones en el año 2010 (unos \$ 1.400 millones), un 13% más que en 2009. Sin embargo, los formatos industriales representan solamente el 14% del total de las ventas minoristas de pan en el país (respecto al valor). El pan tradicional de panadería continúa representando la vasta mayoría de las ventas debido a su precio relativamente bajo y a la calidad que muchos consumidores atribuyen a los productos recién horneados. En 2010, el consumo anual per cápita en la Argentina se estimó en 70,6 Kg para el pan tradicional de panadería y en 4,6 Kg para el pan industrial -pan de molde y bollería (Lezcano, 2011).

Dentro del Código Alimentario Argentino (C.A.A), en el Capítulo IX: "Alimentos Farináceos cereales, harinas y derivados", bajo el título: "Pan y productos de panadería", que agrupa a los artículos 725 al 754, se define el producto alimenticio conocido como Pan del siguiente modo: "Con la denominación genérica de Pan, se entiende el producto obtenido por la cocción en hornos y a temperatura conveniente de una masa fermentada o no, hecha con harina y agua potable, con o sin el agregado de levadura, con o sin la adición de sal, con o sin la adición de otras sustancias permitidas para esta clase de productos alimenticios".

1.3 Características generales del glifosato y su metabolitos AMPA

1.3.1 Mecanismos de acción

Se lo clasifica como inhibidor de la enol-piruvil shikimato fosfato sintetasa (EPSP), enzima que cataliza la formación de un precursor de la biosíntesis de aminoácidos aromáticos en vegetales (Mallory-Smith y Razinger, 2003). Este modelo metabólico no existe en mamíferos. El glifosato es un herbicida que se adsorbe muy fuertemente a los suelos, por lo que a pesar de ser muy soluble, tiene reducida movilidad y eso está expresado por el coeficiente de adsorción, Koc, que relaciona la cantidad de producto adsorbida en el suelo, con la cantidad disponible en el agua. Su valor para glifosato alcanza 21lt/g, es decir, que la mayor proporción de herbicida está unida a las partículas sólidas. La fórmula química del principio activo es $C_3H_8NO_5P$. (Figura 2)

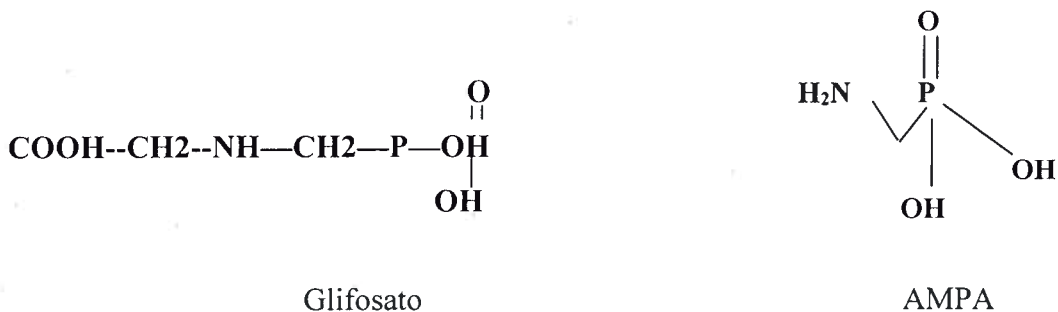


Figura 2- Estructura química de glifosato (Martino, 1995) y AMPA (Catrinck et. Al., 2014)

El peso molecular del principio activo: 169,09 g/mol

El punto de fusión es 189,5°C (999 g/kg)

La densidad es de 1,74 g/ml

Tiempo de vida media en días: Foliar entre 1,6 y 26,6

En suelo entre 20 y 60

En agua entre 3,5 y 70

En aire 5

Solubilidad: muy soluble en agua (10.500 mg/l)

Hasta el 2010 se aprobaron para la venta 214 marcas comerciales de glifosato en la Argentina (SAGPyA, 2010), las cuales corresponden a empresas nacionales y extranjeras. Las marcas Roundup asociadas a la empresa Monsanto abarcan el 3,3 % de las comercializadas.

Las formulaciones de estas marcas tienen como activos a distintas concentraciones:

Sal isopropilamina (48 y 62%)

Sal dimetilamina (60,8%)

Sal potásica (43,8; 62 y 66,2%)

Sal amónica (40,5; 39,6; 74,7; 78 y 79%)

I.3.2 Descomposición de glifosato, formación de AMPA

La degradación de glifosato depende de la actividad metabólica del suelo. Los microorganismos (*Agrobacterium radiobacter* o *Enterobacter aeroneges* (enzima C-P liasa) pueden romper enlaces C-P (carbono-fósforo), dando como producto sarcosina o bien el ácido aminometil fosfónico (AMPA), posteriormente el AMPA puede ser degradado a tasas más lentas que el glifosato (Figura 3).

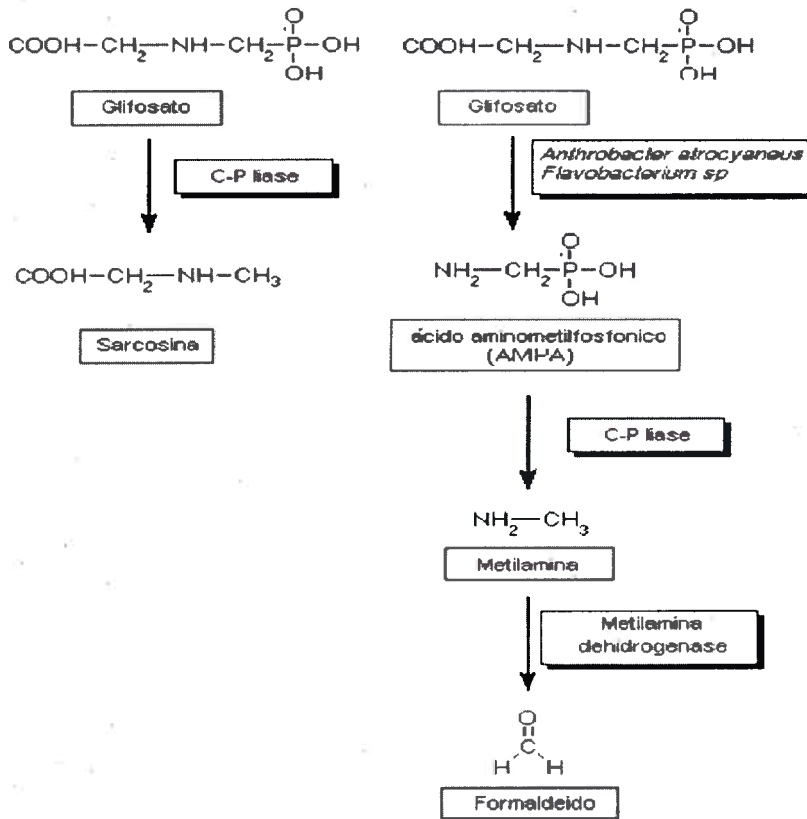


Figura 3- Degradación de glifosato en el suelo (Amarante, 2007).

Si bien el AMPA (figura 1) es también degradado en el suelo, su degradación es generalmente más lenta que la del glifosato debido a que su adsorción a partículas de suelo posiblemente es más fuerte que con el glifosato y/o por la menor posibilidad de penetrar las paredes celulares o las membranas de los microorganismos del suelo (USDA, 1984).

Doublet y Barriuso (2009), sostienen que los pesticidas pueden ser interceptados y absorbidos por las malezas y/o los cultivos dando lugar a la presencia de residuos en las plantas que pueden enriquecer el suelo durante el ciclo del cultivo o luego de la cosecha. La mineralización es el principal mecanismo de disipación del herbicida glifosato en el suelo. Sin embargo, existe escasa información sobre los procesos de mineralización en el estrato formado por los rastrojos en sistemas de no laboreo. Dicho autor observó que la absorción del herbicida en la colza (leguminosa) retrasó su posterior degradación en el suelo y la

persistencia del glifosato fue incrementada de dos a seis veces. La mineralización del glifosato contenido en el vegetal fue menor que la mineralización del herbicida presente en el suelo. El principal metabolito acumulado en las hojas fue AMPA. La mineralización del glifosato estuvo afectada por el órgano de la planta en el cual el herbicida fue incorporado, determinando la disponibilidad del herbicida y su biodegradación. Estas modificaciones del herbicida en el suelo debido a la intercepción por las plantas deben ser consideradas en las evaluaciones de los riesgos ambientales.

El glifosato sólo es selectivo de cultivos transgénicos (soja RR y maíz RR), estos cultivos poseen una EPSP sintetasa que no es inhibida por el herbicida. En estos casos se puede emplear en cualquier etapa de crecimiento de estos cultivos. El empleo de variedades transgénicas ha colaborado para que en ciertas regiones, el glifosato se transforme en el compuesto utilizado mayoritariamente,

Aunque la mayoría de las formulaciones de plaguicidas, son mezclas de productos químicos, la casi totalidad de los métodos de evaluación de la seguridad se centran en los distintos "activos" de los productos químicos, en lugar de las "formulaciones enteras", incluyendo sus aditivos, metabolitos y productos de degradación (Oates y Cohen, 2011).

Dentro de las formulaciones de glifosato con el nombre Roundup se ha mencionado que existe el coadyuvante denominado POEA que podría tener efectos tóxicos más relevantes que el glifosato (Adam et al., 1997; Dellegrave et al., 2003). No se ha citado que el componente esté presente en otras marcas comerciales autorizadas.

Los efectos adversos asociados, parecen ser más dependientes de la formulación y no de la concentración del principio activo (Benachour y Séralini, 2009); (Gasnier et al., 2009). Es posible que estos efectos puedan ser más apropiadamente atribuidos a otros compuestos en la formulación o para el producto de la degradación ambiental del glifosato, AMPA (Kolpin et al., 2005).

1.3.2.1 Comportamiento y persistencia del glifosato/AMPA

Hay estudios que comprueban que el glifosato utilizado como herbicida, permanece en el suelo, se degrada y luego es absorbido por los cultivos posteriores (Benetoli et al., 2010).

Los residuos remanentes de herbicidas/metabolitos de degradación y en particular luego de veranos secos, presentan riesgos de contaminación para cultivos siguientes, debido a que la degradación completa de las formulaciones de los pesticidas es más lenta en estas condiciones (Bromilow et al., 1996). En situaciones de contaminación de glifosato por fuentes puntuales, derrames o repetidas aplicaciones, el resultado puede ser una acumulación del herbicida/metabolitos en el horizonte superior a concentraciones bajas, que no afectan o afectan levemente a los cultivos que se implantan posteriormente (Eberbach, 1998).

Un gran número de estudios indican que el tiempo de permanencia del glifosato depende de las características físicas y químicas del suelo estudiado. Al respecto se documentan tiempos de vida media que van desde 55 días hasta 3 años (Feng et al., 1990; Newton et al., 1984).

Se ha encontrado que el AMPA es más persistente que el glifosato. Se han publicado vidas medias para este compuesto de entre 199 y 958 días (WHO, 1994).

También se ha demostrado que los cultivos transgénicos resistentes a glifosato exudan por sus raíces el compuesto y aumentan el tiempo de persistencia del glifosato en los suelos entre 2 y 6 veces, con el riesgo de incremento de lixiviación para el AMPA extraíble en el suelo (Doublet y Barriuso, 2009; Laitinen, 2009).

Por otro lado estudios de lixiviación y escurrimiento indican que el glifosato puede ser transportado hacia las capas profundas del suelo debido al flujo preferencial por macroporos o hacia cursos de agua superficiales cuando su aplicación se realiza en momentos anteriores a lluvias intensas (Petensen et al., 2007; Jaynes et al., 2001; Elliot et al., 2010; y Flury, 1996). Estos trabajos aportan información muy valiosa que permiten explicar la procedencia de glifosato y AMPA

encontrado en harinas de trigo para consumo (Wigfield et al., 1994; Hjorth et al., 2010).

A diferencia de los cultivos genéticamente modificados, si se aplica glifosato a un cultivo de trigo en desarrollo, este daña a la planta de la misma manera que a las malezas, por lo tanto, no se asocia el glifosato como un herbicida de uso común en este tipo de cultivo, pero es utilizado cuando se trata de acondicionar doble cultivo trigo/soja antes de la cosecha de trigo, para acelerar los procesos de maduración (INTA, 2014).

En la actualidad el consumo del herbicida está directamente relacionado a las variantes del precio del producto y a la rentabilidad del cultivo.

El consumo de glifosato por hectárea aumenta en la misma parcela de tierra año tras año, probablemente por la resistencia que van adquiriendo las malezas. En 1996 se comenzó fumigando con menos de 2 litros por hectárea, existen zonas que superan los 10 lt/ha y en algunas se instila hasta cerca de 20 lt./ha (Informe Pueblos fumigados, 2010).

Según los datos citados en el informe de CONICET en 2007 se consumieron 100 millones de litros o kg de glifosato (CONICET, 2009).

1.3.2.2 Toxicidad

Se entiende por toxicidad a la capacidad o la propiedad de una sustancia de causar efectos adversos sobre la salud. Depende de múltiples factores, como el tiempo de exposición a la sustancia en cuestión, el número de veces que se ha estado expuesto y la vía de ingesta o administración. Se habla de exposición aguda cuando un único contacto puede provocar un daño severo, mientras que la exposición crónica es aquella que involucra el contacto con la sustancia, generalmente en bajas concentraciones, durante un tiempo extenso (Repetto Manuel y Guillermo, 2009).

La Organización Mundial de la Salud clasifica los plaguicidas en base a su toxicidad en estudios con animales, y se basa principalmente en la toxicidad oral y dérmica aguda ensayada en ratas como corresponde a los procedimientos

estándar en toxicología expresada como Dosis Letal 50 (DL₅₀). Para clasificar un compuesto se considera la DL₅₀ más restrictiva ya sea la obtenida por vía cutánea o por vía oral (Tabla 2).

Cualquier clasificación basada en datos biológicos nunca puede ser tratada como definitiva. En la evaluación de datos biológicos, surgen diferencias debidas a: distinta susceptibilidad de los animales, diferencias en las pruebas y materiales que pueden conducir a discusiones y reclasificaciones (OMS, 2009).

CLASE		DL ₅₀ para ratas mg/kg de peso corporal	
		ORAL	DERMICA
Ia	Productos sumamente peligrosos	< 5	<50
Ib	Productos muy peligrosos	5-50	50-200
II	Productos moderadamente peligrosos	50-2000	200-2000
III	Productos poco peligrosos	>2000	>2000
IV	Productos poco probables de ofrecer peligro	>5000	>5000

Tabla 2: Clasificación de plaguicidas según su peligrosidad (OMS, 2005)

El glifosato se ubica dentro de la categoría o clase III, donde en su formulación líquida la DL₅₀ de intoxicación oral es de 2000 a 3000 mg/kg de peso vivo siendo mayor de 4000 mg/kg de peso vivo para la intoxicación dérmica. En su formulación sólida la DL₅₀ para intoxicaciones orales es de 500 a 2000 mg/kg de peso vivo, siendo mayor de 1000 mg/kg de peso vivo para las intoxicaciones dérmicas (Varona et al., 2009).

En la reunión del año 2004 de la JMPR de la FAO, los expertos concluyen que el metabolito AMPA no presenta una mayor preocupación toxicológica que el

glifosato y recomienda una IDA para la suma de glifosato y AMPA de 0-1 mg/kg peso corporal (CONICET, 2009).

Por otra parte un gran número de trabajos describen diversos efectos genotóxicos. En cuanto a la genotoxicidad (Carballo y Mudry, 2006) muestran en sus estudios que los organismos expuestos a glifosato evidencian respuestas a nivel celular antes que se produzcan desequilibrios en el estado de salud. Estas respuestas se denominan bio marcadores de genotoxicidad y se describen como tales; aberraciones cromosómicas (AC), intercambio de cromátides hermanas (ICH), formación de micronucleos (MN), mutaciones genéticas, roturas de simple o doble cadena del ADN y alteraciones en el proceso de reparación mediante electroforesis de células individuales (ensayo cometa) entre otras.

La célula dañada tiene dos posibilidades:

1-que sea reparado el ADN por sistemas propios.

2-que no sea reparado por fallas circunstanciales o constitucionales

Si afecta células germinales se ocasionaran dificultades reproductivas o efectos teratogénicos en la descendencia

Si afecta células somáticas desencadenará apoptosis celular o si la mutación no puede ser eliminada, se generaría la línea celular que ocasionara un cáncer (UNL, 2010).

Dellegrave et al., (2003) observaron efectos teratogénicos luego de exponer ratas preñadas a Roundup (500, 750 y 1000 mg por kg) por vía oral (10 ml/kg) desde el día 6 al 15 de preñez. Los resultados mostraron un 50% de mortalidad de hembras a la concentración más alta así como alteraciones óseas (a nivel de cráneo, extremidades y cola) y retardo en el desarrollo del esqueleto de los fetos en forma dosis dependiente.

El trabajo de Carrasco et al., (2010) verificó los efectos teratogénicos del glifosato, inoculando e incubando embriones anfibios y de pollos con dosis muy diluidas del herbicida. Los resultados encontrados fueron disminución del largo del embrión, alteraciones que sugieren defectos en la formación del eje embrionario,

modificación del tamaño de la zona cefálica con compromiso en la formación del cerebro y reducción de ojos, alteraciones de los arcos branquiales y cambios anormales en los mecanismos de formación de la placa neural que podrían afectar el normal desarrollo del cerebro, del cierre del tubo neural u otras deficiencias del sistema nervioso. Al medir la actividad de algunos sistemas enzimáticos, se descubrió que el glifosato aumenta la actividad endógena del ácido retinoico. La manifestación de los daños estructurales en los embriones fue revertida cuando se utilizó simultáneamente al herbicida, un antagonista del ácido retinoico. Los autores concluyen afirmando que el efecto directo del glifosato sobre los mecanismos iniciales de la morfogénesis en embriones de vertebrados, genera preocupación por los cuadros clínicos que se observan en la descendencia de las poblaciones expuestas a glifosato en los campos agrícolas.

La Dra. Maria Fernanda Simoniello, con el equipo de la Cátedra de Toxicología, Farmacología y Bioquímica Legal de la Facultad de Bioquímica y Biología de la Universidad Nacional del Litoral, estudiaron biomarcadores de reacción celular en personas expuestas a plaguicidas en forma directa (fumigadores) e indirecta (no fumigadores habitantes cercanos de los cultivos). Las investigaciones fueron realizadas con trabajadores del cordón frutihortícola de la ciudad de Santa Fe, donde los plaguicidas mas usados eran clorpirifos, cipermetrina y glifosato. Utilizaron, entre otros biomarcadores, el Ensayo Cometa (ensayo de electroforesis de una sola célula). Los resultados mostraron que ambos grupos de expuestos a los plaguicidas (ocupacional y habitacional) tenían un índice de daño genético estadísticamente muy superior al grupo control (no expuestos a plaguicidas), diferencia que se mantuvo en el análisis de reparación de daño genético (Simoniello, 2007).

Winchester et al., (2009) realizó un estudio epidemiológico–ecológico, que relaciona la cantidad de agroquímicos (el herbicida atrazina, nitratos y otros pesticidas) medidos en agua de superficie y las tasas de malformaciones congénitas detectadas en una población de 30.110.000 nacimientos en USA entre 1996 y 2002. A los nacimientos se los agrupó según los meses de concepción,

para considerar el periodo embriogénico considerado de mayor vulnerabilidad. Los autores consideraron que la presencia de pesticidas en las aguas superficiales es un indicador importante de los niveles de exposición humana a pesticidas. El patrón estacional (primavera) de aumento de pesticidas en el agua coincidió con una mayor tasa de diversas malformaciones congénitas en los niños que fueron concebidos en los meses primaverales; correlación estadísticamente significativa.

La Universidad de McMaster (Canadá), donde se desarrolló la estrategia de lo que se conoce actualmente como Medicina Basada en la Evidencia, es la que generó la revisión sistemática realizada por la Dra. Sanborn, que analiza pesticidas y malformaciones. Los estudios, consistentemente mostraron aumento del riesgo para defectos al nacimiento con la exposición a pesticidas en las madres. Los defectos específicos incluidos fueron reducción de miembros, anomalías urogenitales, defectos del SNC, hendiduras oro faciales, defectos cardíacos y oculares. La tasa general de cualquier malformación también se halla aumentada con la exposición a plaguicidas en los padres (Sanborn et al., 2007).

Con relación a mamíferos no humanos, los estudios de laboratorio sobre el glifosato, su metabolito AMPA y el tensioactivo POEA, demuestran efectos tóxicos a dosis relativamente altas y por consiguiente difícilmente alcanzables en ambientes rurales en los que se aplique el producto en forma apropiada. Por tal motivo, podría afirmarse que bajo condiciones controladas y aplicación responsable basada en buenas prácticas, el glifosato y sus formulados comerciales son sustancias de bajo riesgo para mamíferos no humanos (CONICET, 2009).

Por otra parte se han informado incrementos significativos de daño al ADN mediante el ensayo cometa en hígado y sangre de ratones expuestos a glifosato (40 o 400 mg/kg/día) o AMPA (100 mg/kg/día) en el agua de bebida durante 14 días. Estos efectos indican que estos compuestos podrían ser de preocupación en términos de su potencialidad para dañar el material genético (Mañas et al., 2013).

Los herbicidas a base de glifosato tienen diferentes niveles de toxicidad, en bajas dosis han demostrado ser tóxicos para los cultivos de células humanas.

AMPA se ha reportado más tóxico para los humanos que glifosato (Benachour y Séralini, 2009).

Otros autores han demostrado la genotoxicidad con glifosato y AMPA, es decir la capacidad de interferir en las células para copiar con exactitud el ADN y reproducirse, dando lugar a mutaciones genéticas potenciales y un mayor riesgo de cáncer (Hoeijmakers, 2001).

En Ecuador y Colombia, donde los herbicidas de glifosatos se han utilizado para controlar la producción de cocaína, los estudios han encontrado daño genético y aumento de las tasas de aborto involuntario durante el periodo de pulverización (Paz y Miño et al., 2007; Bolognesi et al., 2009).

En la provincia de Chaco (Argentina), donde la siembra de soja se ha incrementado considerablemente, las tasas de cáncer han aumentado cuatro veces en la última década (Lopez et al., 2012).

I.3.3 Glifosato/AMPA como contaminante

El glifosato es un compuesto sistémico foliar que ingresa por el follaje y se distribuye en toda la planta por lo que es posible hallar en las partes comestibles de vegetales, trazas del compuesto ya sea provenientes del propio tratamiento del cultivo para los que está autorizado su uso (maíz, trigo, soja, frutas y hortalizas) como por contaminación indirecta de vegetales que están expuestos en las zonas de tratamiento.

Si bien la clasificación lo ubica en un puesto de casi inocuidad y sumado a que desde el comienzo de su comercialización este producto se promociona con toxicidad relativamente baja en mamíferos, se ha convertido en uno de los herbicidas más utilizados en el mundo. Pero numerosos estudios evidencian lo contrario y lo ponen como causante de desequilibrios en muchos ambientes. Un trabajo realizado en nuestro país con lombriz de tierra (*Eisenia fetida andrei*) mostro disminución de numero de juveniles eclosionados y huida de adultos, como así también una menor tasa de ingestión de alimentos en suelos tratados con glifosato (Roundup 1,440 g ia/ha) 24 horas post tratamiento (Casabé et al., 2007).

Otros investigadores en Argentina observaron los efectos del glifosato en huevos de *Chordodes nobilii* (gusanos nematomorfos), especie que tiene importancia ecológica ya que en su etapa larval son parásitos de las larvas del mosquito *Aedes Aegypti* vector del virus de dengue, expuestos a diferentes concentraciones de glifosato y los resultados indican que a valores de 0,1 mg/L hubo una disminución de la capacidad infectiva en un 50%, por lo tanto, a valores de glifosato menores a los niveles guía de utilización en cuerpos de agua (0,24 mg/l), existe una disminución de su capacidad infectiva resultando un evidente desequilibrio en el control del vector del virus del dengue (Achiorno et al., 2008).

En Francia, Mamy et al., (2010) estudiaron el impacto ambiental del glifosato y su metabolito AMPA comparándolo con otros herbicidas (trifluralin, metazachlor, metamitron y sulcotrione) y concluyeron que la toxicidad del glifosato es menor a los herbicidas estudiados, pero advierten la alta persistencia y por ende acumulación del metabolito AMPA tanto en aguas superficiales como en suelos.

En otros trabajos realizados sobre los efectos del glifosato en cuerpos de agua, como el realizado por Pérez et al., (2007) en la provincia de Buenos Aires, se observa las consecuencias de la droga en la estructura del fitoplacton y del perifiton. El micro y nanofitoplacton disminuyeron en su abundancia en contraste con las cianobacterias que aumentaron en un factor de 40. El perifiton se comporto de la misma manera, se observó muerte en algunas especies de algas e incremento de las cianobacterias.

1.3.3.1 Residuos de xenobióticos en alimentos, generalidades.

La palabra xenobióticos deriva del griego "xeno" ("extraño") y "bio"("vida"). En consecuencia es un nombre que se aplica a los compuestos cuya estructura química en la naturaleza es poco frecuente o inexistente debido a que son compuestos sintetizados por el hombre en el laboratorio.

Actualmente se designa como xenobióticos a los compuestos, tanto naturales como sintéticos, a los que estamos expuestos y que nuestro organismo

metaboliza y acumula, cuyos efectos pueden ser muy peligrosos para la salud. Los xenobióticos son utilizados en la industria, de: plásticos, pinturas, alimentos, medicamentos, combustibles, cosméticos, cigarrillos, envases, etc., es decir que estamos constantemente expuestos a ellos. La mayoría han aparecido en el medio ambiente durante los últimos 100 años.

Los procesos más importantes por los que se degradan los compuestos xenobióticos son la foto degradación (exposición a radiaciones solares), los procesos de oxidación y reducción química y la biodegradación por los microorganismos. Pero debido a su estructura inusual, algunos xenobióticos persisten mucho tiempo en la biosfera sin alterarse y por eso se dice que son recalcitrantes a la biodegradación, llegando a ser contaminantes. La razón fundamental de que muchos compuestos sintéticos no sean fácilmente biodegradables radica en la gran estabilidad de su estructura química.

Muchos compuestos sintéticos tienen estructuras químicas distintas a las de compuestos naturales, pero incluso los que tienen estructuras similares a las naturales suelen contener modificaciones que los hacen muy estables. Esto hace que las capacidades degradativas de los seres vivos actúen más lentamente.

Los xenobióticos son, por lo tanto, contaminantes de naturaleza química que pueden ingresar a nuestro metabolismo por medio de varias vías y tener diferentes procedencias y producen efectos tóxicos o al menos alteraciones en el normal funcionamiento de las células vivas (ANEXO 5).

1.3.3.2 Residuos de glifosato/AMPA

Del enorme arsenal de xenobióticos utilizados en las prácticas agraria y ganadera se pueden citar estos ejemplos;

Medicamentosos (antiparasitarios internos y externos, antibióticos, atarácicos o tranquilizantes, sulfonamidas, nitrofuranos, etc.), promotores del crecimiento, compuestos hormonales (antitiroideos, hormona del crecimiento, hormonas sexuales), sincronizadores del celo, aditivos de los piensos, plaguicidas, metales pesados, difenilos policlorados, hidrocarburos aromáticos, policíclicos, etc.

La presencia de residuos de plaguicidas en los alimentos depende de una gran cantidad de factores relacionados principalmente con las propiedades físicas y químicas de las moléculas, de las características ambientales donde se aplican y la modalidad del uso. Muchos de estos aspectos se tienen en cuenta al momento de minimizar su aparición en los alimentos mediante la aplicación de Buenas Prácticas Agrícolas (FAO, 2007).

La FAO considera que existe seguridad alimentaria cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico, social y económico a alimentos suficientes, inocuos y nutritivos.

En comparación con todos los herbicidas utilizados en la agricultura el glifosato y sus metabolitos son unos de los más difíciles de analizar. Las dificultades se originan en algunas de sus propiedades químicas, como alta solubilidad en agua y la naturaleza altamente polar de su fórmula molecular, que limitan las opciones para la aplicación de métodos de preparación estándar, como extracción por solvente-solvente. Li et al., (2007) analizaron glifosato y AMPA en un conjunto de alimentos encontrando bajos valores en muestras de soja de EEUU con: 1,7-2,1 mg/kg de glifosato y 1,5-2,8 mg/kg de AMPA. También encontraron valores significativos en soja procedente de Argentina con valores: 1,3-2,3 mg/kg de glifosato y 2,5-2,8 mg/kg de AMPA.

Hjorth et al., (2010) realizó un informe donde describen la presencia de glifosato en muestras de trigo tomadas en 2009, las cuales tenían como destino el consumo animal. Los resultados mostraron que el herbicida se detectó en: 5 muestras de trigo con niveles entre 0,05-0,71 mg/kg y en una muestra de cebada con 1,44 mg/kg.

1.3.4 Interés del presente estudio

Los sistemas de control de residuos de plaguicidas en un país deben garantizar que los alimentos lleguen a los consumidores sin afectar la salud de los mismos. Estos sistemas además de monitorear, alertar y corregir problemas para proteger la salud, deben contribuir a eliminar la presencia de residuos en los

alimentos. En el terreno existen muchas dificultades a la hora de cuantificar los daños o efectos tóxicos a niveles de exposiciones bajas y prolongadas.

En los países latinoamericanos tradicionalmente agrarios, estos sistemas si bien existen, están poco perfeccionados y son muy vulnerables, tendiendo a dejar brechas importantes en la cadena de protección al consumidor y al ambiente (UNL, 2010).

En Argentina la SAGPyA-SENASA en 2008 aprobó la resolución n° 507/08 (SAGPyA, 2008) estableciendo límites y autorizaciones para 306 ítems de principios activos con aptitudes para 123 cultivos, con un total de unos 2600 Límites Máximos de Residuos (LMR) (ANEXO 6).

En el caso de glifosato/glifosato ácido en cereales y oleaginosas establece como LMR 5 mg/kg en Trigo grano para consumo.

Existe una propuesta de modificación de estos valores, que tiende a rectificar errores involuntarios cometidos en la resolución SAGPyA N° 507/ 2008 sobre límites máximos de residuos de plaguicidas, que a su vez ampliaba y modificaba los límites de residuos en principios activos de plaguicidas y las restricciones de su uso, establecidos por la resolución Senasa N° 256/2003.

El CODEX ALIMENTARIUS-FAO Y la OMS (2010), dispusieron los límites máximos de residuos para glifosato/AMPA en una amplia variedad de productos alimenticios, pero la gran mayoría son granos enteros sin ningún tipo de procesamiento. Para alimentos procesados se contemplan varios tipos de harinas (harina de soja, harina de centeno harina de maíz y harina de trigo). Dentro de estas categorías, la harina de trigo es el producto con mayor cantidad de residuos regulados, pero no se contempla al glifosato/AMPA como contaminante, ya que no se estipula el LMR (ANEXO 7).

En Argentina la SAGPyA-SENASA desarrolla entre otras actividades, el control de residuos químicos desde la década de 1970. Sin embargo la magnitud de los cambios producidos en la actividad agropecuaria, las innovaciones tecnológicas aceleradas y profundas, han generado una necesidad nunca vista anteriormente de extremar las condiciones de eficiencia y alcance de los sistemas

de seguridad alimentaria. Las estructuras destinadas a este fin con el objetivo de proteger la salud y el ambiente son prioritarias en todas las naciones y en particular lo es hoy en nuestro país.

En vista de todo lo expuesto, se plantea las siguientes hipótesis y objetivo:

HIPÓTESIS

La harina de trigo utilizada en la elaboración de productos de panificación, posee niveles del metabolito AMPA que pueden impactar en la salud de los consumidores.

OBJETIVOS

General:

- ✓ Cuantificar los niveles del metabolito AMPA en muestras de harina de trigo en un establecimiento elaborador de productos de panificación de la ciudad de Río Cuarto, Córdoba, Argentina, con distribución zonal y local.

Específicos:

- ✓ Adaptar el protocolo empleado en suelos y aguas superficiales para la preparación de las muestras.
- ✓ Adaptar la metodología empleada en jugos de frutas para la determinación de AMPA mediante derivatización y elución en HPLC.
- ✓ Validar el método empleado frente a la técnica de referencia.

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

II. MATERIALES Y MÉTODOS

La parte experimental se realizó en el Laboratorio de Salud Pública, Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC), provisto de los equipos, materiales descartables y material de vidrio, que se utilizaron para realizar la experiencia.

II.1 Materiales

II.1.1 Harinas

El muestreo se realizó en un establecimiento elaborador de productos de panificación ubicado en la ciudad de Río Cuarto, el cual distribuye sus productos en 9 puntos de venta en la ciudad y en varios puntos de venta en localidades cercanas, distantes entre 50 y 170 km de la ciudad (General Deheza, Gigena, Berrotarán, Coronel Moldes, Sampacho, Villa Mercedes y Villa de Merlo).

Este establecimiento trabaja con un único proveedor, Molinos Florencia que entrega 2 tipos de harinas, la denominada mezcla para pan francés utilizada para elaborar el pan y la harina común que es la que se usa para el resto de los productos elaborados.

Extracción de la muestra

La toma de las muestras se realizó con un intervalo de 15 días, durante un período de 2 años, el objetivo de esta frecuencia fue recoger lotes distintos, para poder evaluar diferentes partidas del insumo.

Con calador manual se tomó por duplicado muestras de 50 gr de harina acondicionada para elaborar pan francés.

Descripción de la muestra:

Presentación: Bolsa de 50 Kg.

Ingredientes: harina de trigo "000", "0000", emulsionante INS 481i, mejoradores de harina (INS 300, INS 927, INS 928) hierro (sulfato ferroso) vitamina B3 (Niacina), vitamina B1 (Tiamina), ácido fólico y vitamina B2.

Descripción del muestreo:

-Se introdujo el calador en la bolsa de harina de 50 Kg;
-Posteriormente la muestra extraída se colocó en una bolsa de polipropileno, se selló en forma manual, se colocó otra bolsa protectora y un rótulo entre ambas con la siguiente información;

Fecha de muestreo

Tipo de harina

Número de lote de la bolsa de harina

Fecha de elaboración

Fecha de vencimiento

-Las muestras se almacenaron en freezer a -18°C hasta su procesamiento.

II.1.2 Drogas y Solventes

Fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4), Laboratorios CICARELLI Pro Análisis (ACS), Potasio Di Hidrógeno Fosfato PM: 136,09 Cas N°: 777877-0, Artículo 782211, Lote 49482.

Hidróxido de Sodio (NaOH) MERCK, en lentejas para análisis ISO, PM: 40, 00 g/md, R35, S26-37/39-45, IMDG Code: 8/11, UN 1823, WGK1.

Acetonitrilo (CH_3CN) PAI, Pai Reac, HPLC-Gradiente, PAI-ACS, Made (EU), Lot 0000217661, Min Val 12/2013, UN 1648, N° CE: 200-835-2.

P-Toluensulfanylchloride ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{Cl}$) REAGENT PLUS, ALDRICH, Made in USA, MSDS Available GBo6445 FO-R8D.

Aminomethyl Phosphonic Acid (AMPA) ($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$), SIGMA-ALDRICH, FW 11,04[1066-51-9], A0539-100MG, 100 MG 73,20.

II.2 Método

II.2.1 Instrumental específico

- Cromatógrafo líquido de alta presión marca HEWLETT PACKARD 1050Q, con bomba, unidad de desgasado, válvula de inyección manual, unidad de lavado continuo de sellos, interfase de comunicación, detector de UV-VIS,

celda de flujo SST con interfase de comunicación CHEM STATION, CPU VECTRA 486/33 VL, Disco Duro 240 MB, Software Operativo HPLC-2D, Impresora Lexmark 3200.

- Balanza Granataria SORTORIUS BASIC, capacidad 2100 gr, precisión 0,1gr Made in Germany. Fabr. Nr 20302095.
- Agitador tipo Vortex Fbr DEGALAR SRL Made in Argentina.
- PHmetro ALTRONIX ph mv 8°C C Meter tpx1.
- Agitador Magnético WORKS USA CERAMAG Mid IKA, modelo CE RAMAG Midi 230v, regulable de 0-1500RPM, capacidad hasta 15 lt.
- Baño Termostático FAC Fábrica de aparatos Científicos, modelo BALLUS acero inoxidable, doble gradilla, termo regulador electrónico.
- Macrocentrífuga ROLCO.
- Balanza MEDICAL SA METTLER H-80, Made in Suiza, sistema de lectura digital pesado 0-160 gr, precisión 0,1 mg.
- Lavador Ultrasónico Digital HEARTED.
- Desionizador Equipo OSMOION 10 version 4 cartuchos APEMA SRL.
- Heladera RA-301 frio 12" ESLABON DE LUJO.
- Micropipetas: MICROLIT Autoclavable 1000 ul.
- MICROLIT Autoclavable 20-200 ul.
- Propipeta DELTALAB CE 25 ml.

II.2.2 Preparación de la muestra

Para la limpieza de las muestras se adaptó una técnica empleada en suelos y aguas superficiales (Peruzzo et al., 2008) (Figura 4).

Paso 1: De cada muestra de harina de 50 g, se tomaron por **duplicado** 15 g y se colocaron en tubos rotulados de 25 ml de capacidad. Se agregaron 25 ml de KH_2PO_4 0,1 M y se agitaron hasta homogeneizar.

Paso 2: Se centrifugaron a 3500 rpm a temperatura ambiente durante 10 minutos.

Paso 3: Se extrajo el sobrenadante y se apartó en tubos rotulados. El material precipitado permaneció en tubos originales. Este material fue sometido a una doble re extracción mediante el agregado de 10 ml de KH_2PO_4 0,1 M, agitación hasta su homogeneización y centrifugación a 3500 rpm durante 10 minutos.

Paso 4: El material precipitado se desechó y se reunieron los 3 sobrenadantes en matraz aforado de 25 ml llevando a enrase con KH_2PO_4 0,1 M.

Paso 5: Cinco ml de cada extracto se llevaron a baño de agua a 100°C durante 5 minutos.

Paso 6: Los tubos se centrifugaron a 3500 rpm a temperatura ambiente durante 10 min.

Paso 7: Se tomaron 3 ml del sobrenadante de cada tubo y se reservaron para la derivatización y posterior corrida cromatográfica.

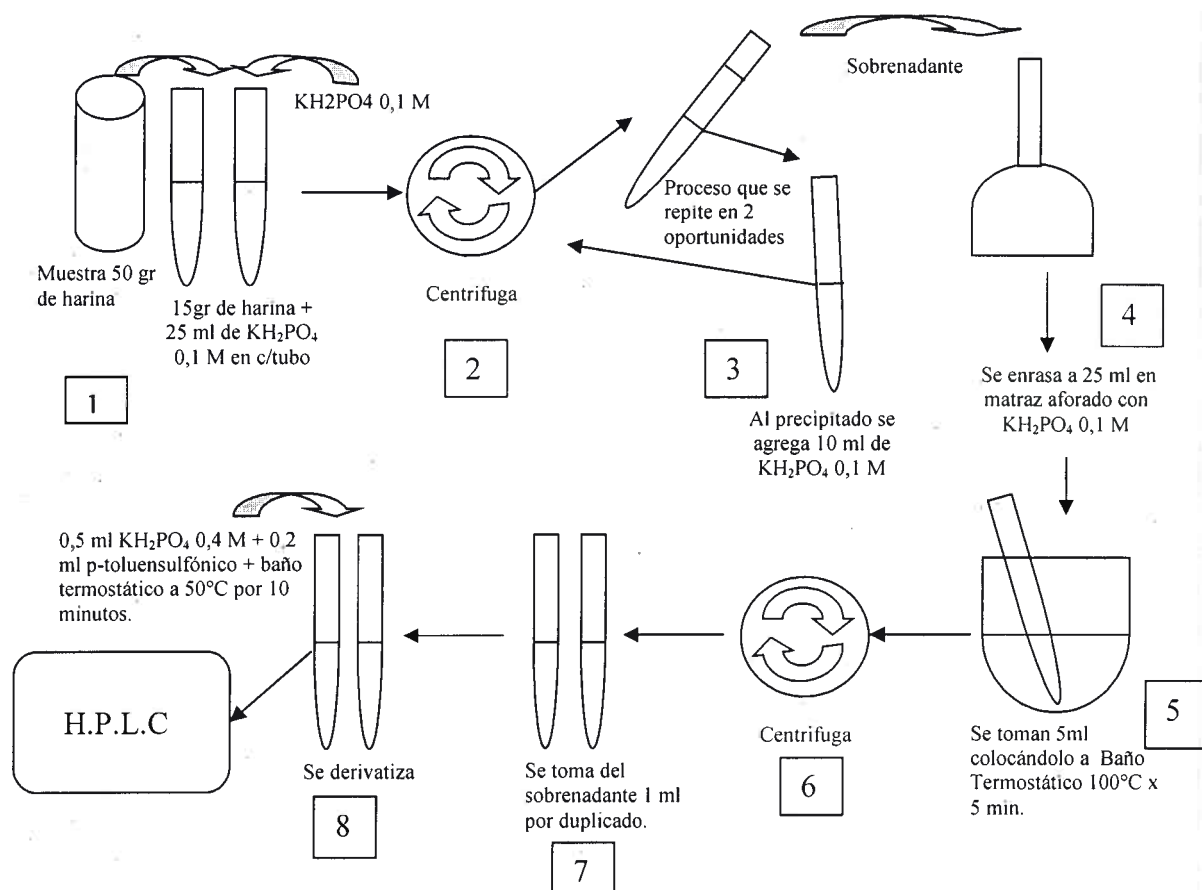


Figura 4: Proceso de preparación de la muestra.

II.2.3 Determinación de AMPA

Para el análisis del metabolito en muestras de harina de trigo se adaptó una metodología empleada en jugos de frutas para la determinación de AMPA mediante derivatización y elución por HPLC (Khrolenko y Wieczorek, 2005).

II.2.3.1 Derivatización

La derivatización es el proceso mediante el cual se transforma el analito, en este caso AMPA, mediante una reacción química a un derivado más fácil de analizar.

Los métodos de derivatización pueden ser de pre-columna o de post-columna, dependiendo del momento en el que se realiza la derivatización. En este caso se realizó una derivatización pre-columna para transformar el analito en un compuesto detectable y cuantificable por un detector UV (Figura 4, paso 8).

Se agitó 1 ml del sobrenadante obtenido en el paso 7 con 0,5 ml de buffer fosfato pH 11 (KH_2PO_4 0,4 M ajustado con NaOH 1M) y 0.2 ml de la solución derivatizante de cloruro de p-toluensulfónico (10 mg/ml en acetonitrilo), en vortex durante 30 segundos y se llevó a baño termostático a 50°C por 10 minutos.

Después de este paso la solución queda lista para realizar la elución en el HPLC.

II.2.3.2 Elución de muestras por HPLC.

Se inyectaron 100 μl de cada solución derivatizada en el HPLC. Las condiciones cromatográficas utilizadas fueron: elución isocrática en fase reversa con columna ODS C-18, fase móvil compuesta por 0.06 M KH_2PO_4 , (ajustado a pH 2,3 con H_3PO_4) y acetonitrilo 85:15 (v/v), velocidad de flujo de 1 ml/minuto y detección por UV a una longitud de onda de 240 nm.

II.2.4 Validación del método para la determinación de AMPA en harina de trigo.

La definición ISO (International Standards Organization) de validación aplicada a los métodos analíticos puede interpretarse como el proceso mediante el cual queda establecido, por estudios experimentales, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica requerida.

La validación es el proceso establecido para la obtención de pruebas documentadas y demostrativas de que un método de análisis es lo suficientemente fiable y reproducible para producir un resultado previsto dentro de intervalos definidos. La validación proporciona un alto grado de confianza y seguridad del método analítico.

La validación de un procedimiento analítico permite establecer por medio de estudios laboratoriales que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no solo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales (Herrera et al., 2002).

Para la validación del método empleado en el presente trabajo se efectuaron pruebas de: especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, repetibilidad, reproducibilidad y recuperabilidad.

II.2.4.1 Especificidad.

Especificidad es:

La capacidad de evaluar en forma inequívoca al analito en presencia de los componentes cuya presencia cabría esperar, tales como impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz (Callejón, 2007).

Para realizar este procedimiento se tomo muestra de harina, se procesó como se explica en el punto **II.2.2**. Una fracción de esta muestra procesada se le agrego AMPA, para lograr una concentración final equivalente a 24 ppm, antes del calentamiento a 100°C por 5 minutos como se observa en la (figura 5).

Las muestras se eluyeron como se explica en el punto **II.2.3.2**.

DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO (AMPA), PRINCIPAL METABOLITO DEL GLIFOSATO, EN HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACIÓN

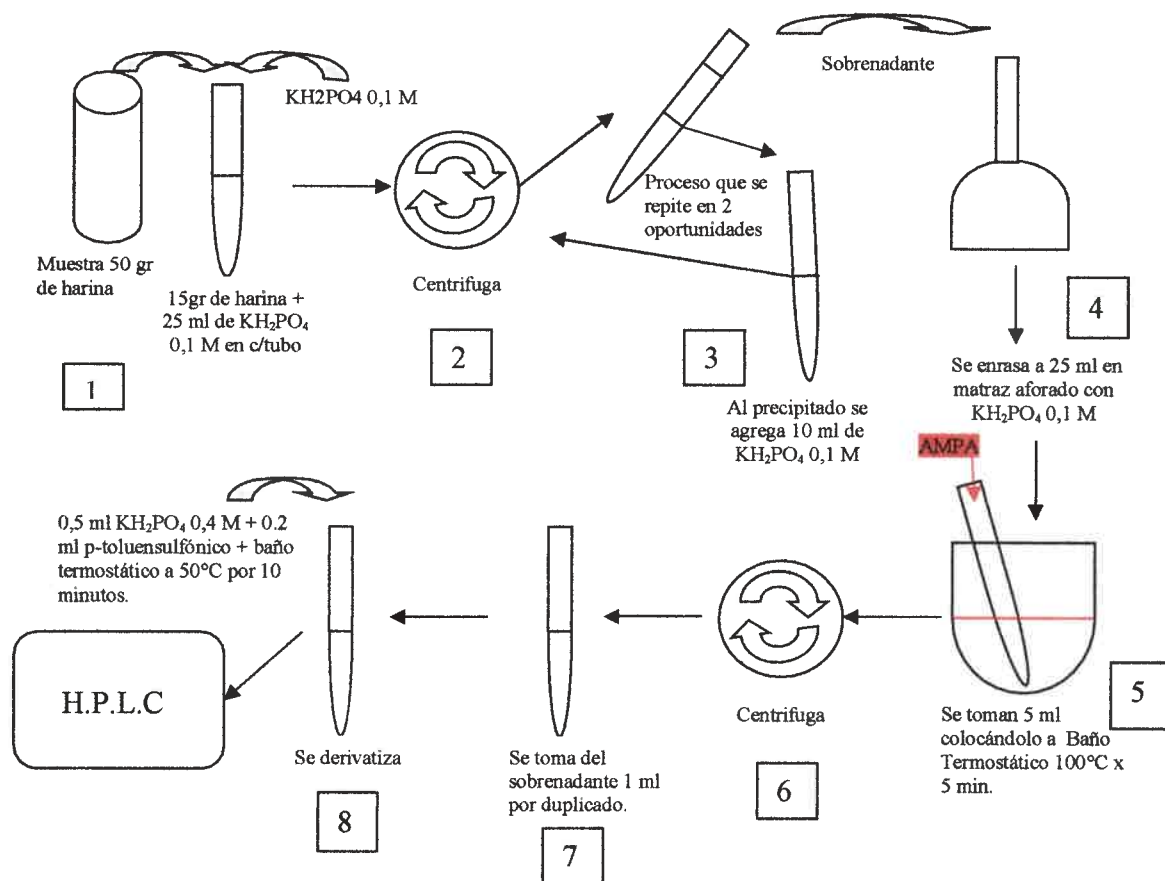


Figura 5: Proceso de preparación de la muestra con agregado de AMPA.

II.2.4.2 Límite de detección y cuantificación.

Los límites de detección y cuantificación son dos categorías que se establecen para determinar el límite de mensura del método.

Se define límite de detección como la menor cantidad de analito que puede detectarse en una muestra, aunque no necesariamente cuantificarse, bajo las condiciones experimentales indicadas. Se define el límite de cuantificación como: la menor cantidad de analito en una muestra que puede determinarse en forma confiable bajo las condiciones experimentales establecidas (Arinbruster et al., 1994).

Se prepararon soluciones del extracto de harina con diferentes concentraciones de AMPA equivalente a: 1,5; 0,75; 0,375 y 0,1875 ppm siguiendo el esquema de la Figura 5. Luego se derivatizaron y se eluyeron por triplicado en las condiciones del ensayo.

II.2.4.3 Linealidad.

La linealidad de un método analítico es su capacidad para obtener resultados de prueba que sean proporcionales ya sea directamente, o por medio de una transformación matemática bien definida, a la concentración de analito en muestras en un intervalo dado (Callejón, 2007).

Para evaluar la linealidad del método:

Se prepararon soluciones de cantidades conocidas de AMPA en extracto de harina para dar concentraciones equivalentes a 3, 5, 7, 8, 10, 12,16 ppm, se derivatizaron y se eluyeron por triplicado como se explica en la Figura 5.

II.2.4.4 Precisión.

Se puede definir precisión como el grado de coincidencia entre los resultados de las muestras individuales de una muestra homogénea. La precisión debe evaluarse a través del intervalo de cuantificación especificado en el método. La precisión del método debe incluir todas las fuentes de variación desde la preparación de la muestra hasta el redondeo del resultado final de la prueba (Adamovics, 1990).

El Coeficiente de Variación (CV) es un parámetro estadístico que indica, en términos porcentuales, la dispersión de una serie de datos respecto al valor medio. El valor del CV es igual a 0 cuando no existen diferencias entre los puntos, resultando entonces una distribución totalmente homogénea. En ensayos de laboratorio un CV entre 0 y 10% se considera entre bueno y muy bueno, aceptándose valores hasta de 15% (Gil, 2008).

II.2.4.4.1 Repetibilidad.

Se llama repetibilidad a la precisión obtenida bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo (mismo día), por un mismo analista, en la misma muestra homogénea y en el mismo equipo.

Para determinar la repetibilidad del método se procesaron distintas fracciones de la muestra como se observa en la figura 5 a concentraciones que equivalen a 3, 7 y 10 ppm se derivatizaron y se eluyeron por cuadruplicado.

II.2.4.4.2 Reproducibilidad

La tolerancia es el grado de reproducibilidad del método analítico, en diversas condiciones la reproducibilidad inter-día alude al método llevado a cabo en el mismo laboratorio en idénticas condiciones pero en días diferentes.

Para evaluar la reproducibilidad inter-día se realizaron 3 ensayos en días diferentes. En cada día se procesaron las muestras como se hace referencia en la figura 5 a concentraciones equivalentes de 5 y 10ppm eluyendolas por triplicado.

II.2.4.5 Recuperabilidad

La exactitud de un método analítico es un parámetro que indica la cercanía de los resultados obtenidos por este método a un valor considerado como real y se expresa como % de recuperación.

Existen varios procedimientos para determinar la exactitud de una metodología analítica:

- Aplicación del procedimiento analítico a materiales de referencia certificados, cuya concentración de analito es conocida y comparación del valor medido con el valor certificado como real.

- Comparación de los resultados obtenidos por la metodología propuesta con aquellos obtenidos mediante un método normalizado cuya trazabilidad es conocida.

- Recuperación de cantidades conocidas de analito, obtenidas mediante el enriquecimiento de las muestras. La media de las réplicas indica el grado de exactitud del método.

Para validar la exactitud de la metodología propuesta, se optó por el enriquecimiento de las muestras.

prepararon muestras con cantidades conocidas de AMPA (3 y 15 ppm) y extractos de la misma harina con iguales concentraciones.

Para ello se realizaron 2 procedimientos

- a) Se tomaron dos fracciones de 15 gr de harina. A una de ellas se agregó 450 μ l de AMPA a una concentración de 100 μ l/ml para representar un residuo en la harina de 3ppm y a otra 2250 μ l de AMPA a la concentración de 100 μ g/ml para representar un residuo de 15 ppm, en forma directa diluida junto con los primeros 25 ml de KH_2PO_4 0,1 M (Figura 6), los pasos que siguieron para el procesamiento de la muestra son coincidentes con el procesamiento de una muestra sin agregados descriptos en el punto II 2.2 Las muestras se eluyeron por triplicado.
- b) Otra fracción de harina fue sometida al proceso descrito en la figura 6 agregando AMPA en cantidades y concentración correspondiente para representar residuos de 3 y 15 ppm en los extractos previos a la derivatización.

Las eluciones fueron por **triplicado** en ambos casos.

DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO (AMPA), PRINCIPAL METABOLITO DEL GLIFOSATO, EN HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACIÓN

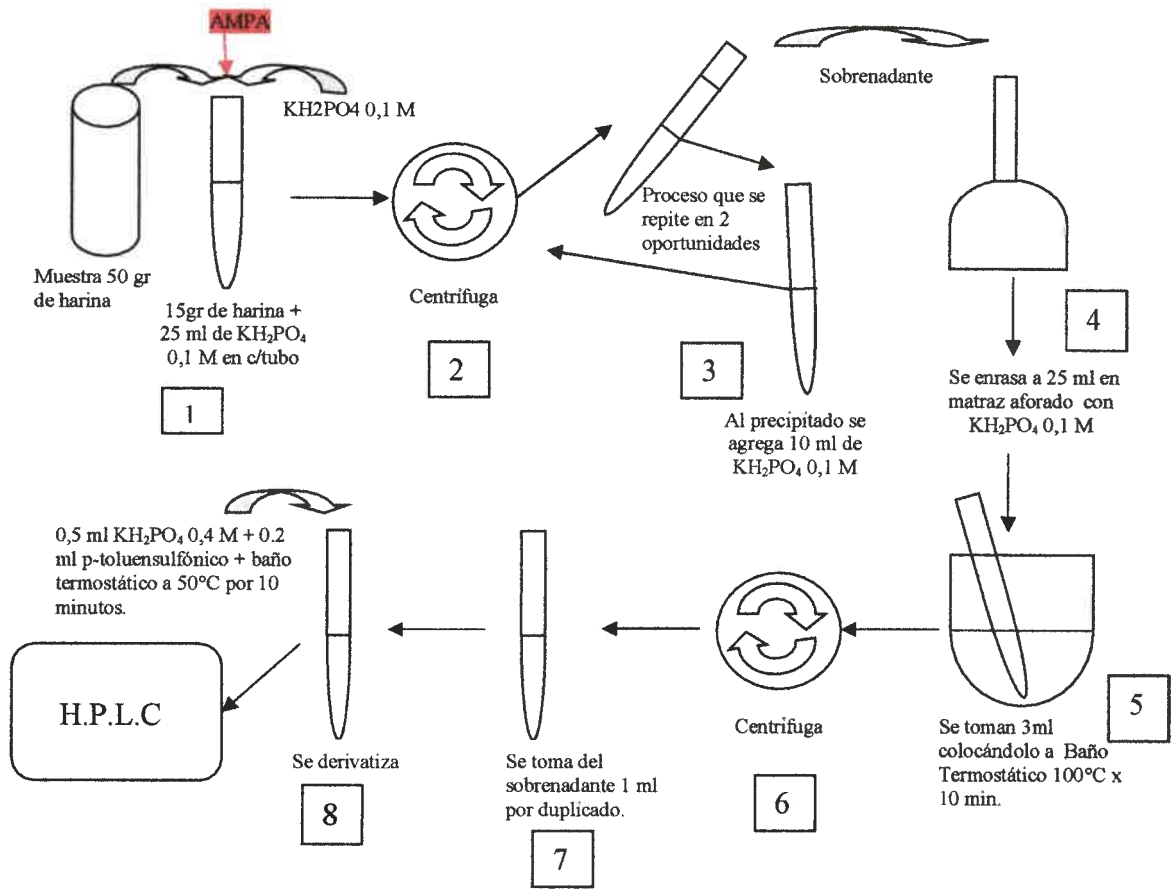


Figura 6: Proceso de preparación de la muestra con agregado de AMPA

CAPITULO III

RESULTADOS

III. RESULTADOS

III. 1. Validación del método para la determinación de AMPA en harina de trigo.

III.1.1 Especificidad

Las figuras 7 y 8 muestran respectivamente, los cromatogramas obtenidos luego de la derivatización de una fracción de la muestra de harina procesada y de otra fracción la misma con el agregado de AMPA, en concentración adecuada para lograr un residuo de 24 ppm.

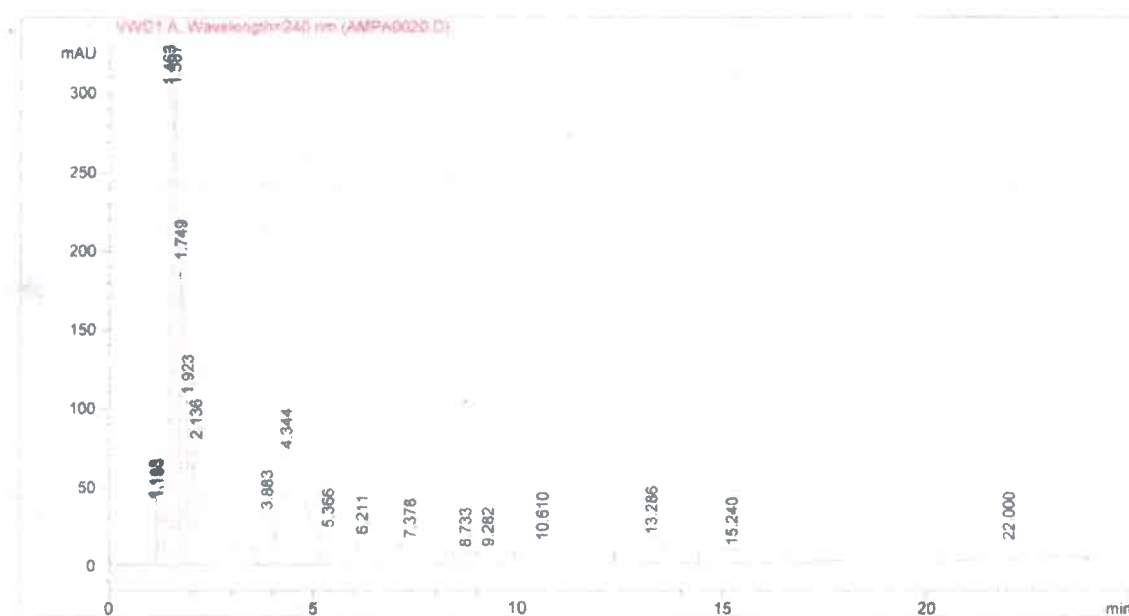


Figura 7: Cromatograma de una muestra de harina de trigo sin agregado de AMPA

DETERMINACION DEL ACIDO AMINOMETILFOSFONICO (AMPA), PRINCIPAL METABOLITO DEL GLIFOSATO, EN HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACION

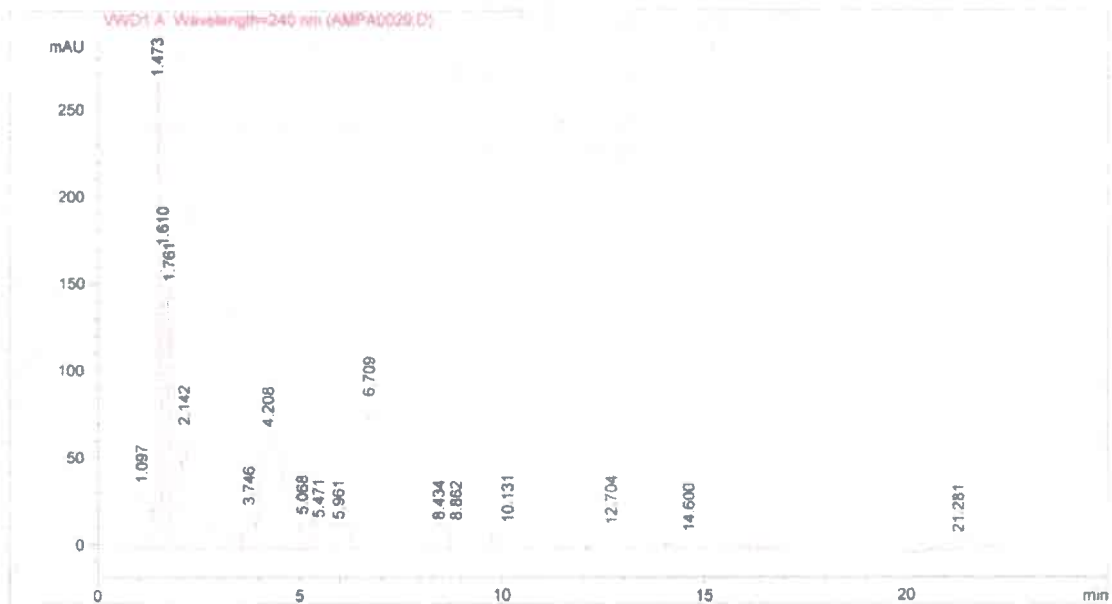


Figura 8: Cromatograma de una muestra de harina de trigo con AMPA agregado

En los perfiles de elución, los picos observados a los tiempos de retención de 6,2 y 6,7 minutos presentan una considerable diferencia en el área, que corresponde a la diferente concentración de AMPA.

III.1.2 Límite de detección y cuantificación

Como se explico en materiales y métodos a partir de una muestra de harina se analizaron extractos con concentraciones equivalentes a 1,5; 0,75; 0,375 y 0,1875 ppm que se eluyeron por triplicado.

Se estableció como límite de cuantificación (LOQ) la mínima concentración para lo cual la señal se cuantificó en todas las eluciones en forma confiable y con excelente repetibilidad. El LOQ para AMPA fue de: 0,375 ppm.

Se estableció como límite de detección (LOD) a la mínima concentración de AMPA para la cual la detección comenzó a ser imprecisa. El LOD se estableció en: 0,1875 ppm.

III.1.3 Linealidad.

Como se hizo referencia en el punto II.2.4.3 se evaluaron soluciones de cantidades conocidas de AMPA en extracto de harinas para dar concentraciones equivalentes a 3, 5, 7, 8, 10, 12,16 ppm y se analizaron por triplicado en las condiciones del ensayo.

CONCENTRACION DE AMPA (ppm)	AREA DE PICO (mUa x seg)	AREA DE PICO Media \pm desvío estándar $\bar{X} \pm SD$ (mUa x seg)
3	374 345 340	353 \pm 18
5	653 635 644	644 \pm 9
7	911 877 879	889 \pm 19
8	995 987 1042	1008 \pm 29
10	1410 1390 1325	1375 \pm 44
12	1507 1480 1498	1495 \pm 13
16	2005 1970 1968	1981 \pm 20

(*) mUa: mili unidades de absorbancia

Tabla 3: Áreas logradas con diferentes concentraciones de AMPA en muestras de harina de trigo.

Se utilizó el programa Microsoft Excel 2007 para calcular la ecuación de la recta de regresión lineal. Se obtuvo un comportamiento lineal en el intervalo de concentraciones de AMPA de 3 a 16 ppm y la siguiente ecuación de la recta.

$x = b + m.y$ (donde y es la relación de área, x la concentración, m la pendiente y b el intercepto)

Concentración= $-0,29211118 + 0,00822224 \times \text{Área}$.

La figura 8 muestra que a medida que aumenta la concentración de AMPA, el área aumenta proporcionalmente (Figura 8).

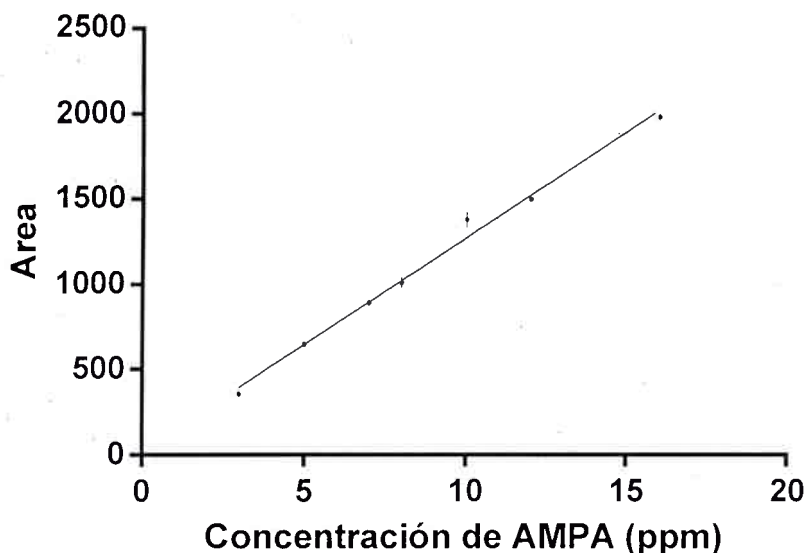


Figura 8: Relación entre concentraciones de AMPA en muestras de harina de trigo y área lograda.

Se realizó el análisis de correlación obteniéndose un valor de R de 0,987, este valor cercano al uno, permite afirmar una fuerte correlación entre los valores de área y la concentración del analito en la mezcla de reacción, por lo tanto una excelente linealidad de cuantificación.

III.1.4 Precisión

III.1.4.1 Repetibilidad.

Como se describe en el punto II.2.4.4.1 se procesaron las muestras a concentraciones que equivalen a 3, 7 y 10 ppm y se ensayaron por cuadruplicado obteniendo los resultados que se muestran en tablas (Tabla 4).

CONCENTRACION DE AMPA (ppm)	AREA DE PICO (mUa (*) x seg)	AREA DE PICO Media \pm desvío estándar $\bar{X} \pm SD$ (mUa x seg)	COEFICIENTE DE VARIACION %
3	385 394 380 391	387 \pm 5	1,39
7	890 922 875 925	903 \pm 10	1,13
10	1302 1299 1278 1312	1297 \pm 14	1,10

(*)mUa: mili unidades de absorbancia

Tabla 4: Áreas obtenidas en muestras de harina de trigo enriquecida con diferentes concentraciones de AMPA.

En este ensayo los CV obtenidos evidencian una excelente repetibilidad del método en las condiciones empleadas, debido a la escasa variabilidad de las áreas logradas comparadas con la media.

III.1.4.2 Reproducibilidad.

Como se explicó en el punto II.2.4.4.2 se procesaron por triplicado las muestras enriquecidas con AMPA, para ser ensayadas en diferentes días, en concentraciones equivalentes a 5 y 10 ppm. Se derivatizaron y eluyeron con los resultados que se muestran en la (Tabla 5).

CONCENTRACION DE AMPA (ppm)	DIA 1 AREA DE PICO (mUa x seg.)	DIA 2 AREA DE PICO (mUa x seg.)	DIA 3 AREA DE PICO (mUa x seg.)	AREA DE PICO Media \pm desvío estándar $\bar{X} \pm SD$ (mUa x seg.)	COEFICIENTE DE VARIACION %
5	644	628	665	646 \pm 15	2,3
10	1380	1410	1350	1380 \pm 52	3,8

(*)mUa: mili unidades de absorbancia

Tabla 5: Áreas logradas en muestras de harina de trigo con 2 concentraciones de AMPA en diferentes días de elución.

Como se puede observar en la tabla 6, el CV de las muestras evaluadas, da como resultado valores inferiores al 10%, por lo tanto se considera que la reproducibilidad es muy buena.

III.1.5 Recuperabilidad

Los resultados obtenidos en los ensayos que se describen en el punto II.2.4.5 de materiales y métodos, se pueden observar en la Tabla 6.

DETERMINACION DEL ACIDO AMINOMETILFOSFONICO (AMPA), PRINCIPAL METABOLITO DEL
GLIFOSATO, EN HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACION

CONCENTRACION DE AMPA (ppm)	AREA DE PICO (mUa x seg)	AREA DE PICO Media \pm desvío estándar $\bar{X} \pm SD$ (mUa x seg.)	RECUPERACIÓN %
3 en harina	345	332,66 \pm 12,50	94,77
	333		
3 en extracto	320	351 \pm 16,52	
	350		
	368		
15 en harina	335	1812,66 \pm 22,50	97,92
	1813		
	1790		
15 en extracto	1835	1851 \pm 21,28	
	1870		
	1855		
	1828		

(*) mAU: mili unidades de absorbancia

Tabla 6: Áreas obtenidas en 2 muestras de harina de trigo con agregado de 2 concentraciones de AMPA en diferentes momentos del procesamiento de las muestras.

CAPITULO IV

ANÁLISIS DE DATOS

IV. ANÁLISIS DE DATOS

Niveles de AMPA en harina de trigo

Las muestras de harina de trigo que fueron recolectadas durante un año, preparadas adecuadamente según se muestra en punto II.2, se eluyeron por duplicado.

En la Tabla 8 se detallan los valores de áreas y tiempos de retención observados en la elución de cada muestra y el valor de concentración de AMPA obtenido mediante la regresión lineal.

Muestra	Orden de fecha	Concentración promedio (ppm)	Tiempo de retención Promedio	Área Promedio
100910-260211	10/09/2010	6,107915991	6,4705	778,3800
160910-070311	16/09/2010	6,597262605	6,5105	837,8950
210910-291210	21/09/2010	2,710568646	6,4655	365,1900
300910-110311	30/09/2010	6,060884778	6,4920	772,6600
081010-250311	08/10/2010	6,323215346	6,2550	804,5650
131010-060111	13/10/2010	3,224499757	6,2320	427,6950
191010-160411	19/10/2010	5,861248791	6,4330	748,3800
291010-160411	29/10/2010	4,215485233	6,7860	548,2200
111110-280511	11/11/2010	5,978086822	6,8295	762,5900
231110-090511	23/11/2010	7,021077966	6,7845	889,4400
261110-180511	26/11/2010	6,475614564	6,7860	823,1000
091210-010611	09/12/2010	10,21118375	6,5590	1277,4250
141210-010611	14/12/2010	4,666433986	6,6940	603,0650
241210-170611	24/12/2010	12,93702076	6,5360	1608,9450
070111-160611	07/01/2011	8,596048038	6,6240	1080,9900
140111-280611	14/01/2011	2,246793198	6,2200	308,7850
210111-030711	21/01/2011	6,867979857	6,5010	870,8200
310111-210711	31/01/2011	4,346753294	6,9355	564,1850
150211-090811	15/02/2011	0,887245814	6,6735	143,4350

DETERMINACION DEL ACIDO AMINOMETILFOSFONICO (AMPA), PRINCIPAL METABOLITO DEL
GLIFOSATO, EN HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACION

220211-090811	22/02/2011	1,70659203	6,4125	243,0850
030311-200811	03/03/2011	4,304737648	6,8435	559,0750
100311-200811	10/03/2011	-0,292111118	6,0000	0,0000
180311-020911	18/03/2011	5,793333089	5,9195	740,1200
230311-020911	23/03/2011	4,319003234	6,9095	560,8100
290311-100911	29/03/2011	2,88134457	6,4020	385,9600
070411-180911	07/04/2011	9,347026328	6,4525	1172,3250
140411-071011	14/04/2011	5,925341152	6,1110	756,1750
280411-071011	20/04/2011	2,907121293	6,1395	389,0950
210411-071011	21/04/2011	2,461270329	6,1775	334,8700
060511-251011	06/05/2011	5,836623182	5,8140	745,3850
200511-061111	20/05/2011	4,954993498	6,8175	638,1600
270511-221111	27/05/2011	6,452304514	6,4610	820,2650
020611-221111	02/06/2011	5,099006032	6,2160	655,6750
160611-281111	16/06/2011	6,896922142	6,4465	874,3400
290611-281011	29/06/2011	4,287717611	6,4565	557,0050
010711-141211	01/07/2011	3,772553164	6,8230	494,3500
080711-221111	08/07/2011	2,581438366	6,9985	349,4850
140711-040112	14/07/2011	3,52062373	6,2000	463,7100
290711-180112	29/07/2011	5,67312394	6,0500	725,5000
161111-120412	16/11/2011	2,803397735	6,3240	376,4800
240512-171112	24/05/2012	3,42228574	6,9205	451,7500
160812-070313	16/08/2012	3,609300589	6,7655	474,4950
310812-200213	31/08/2012	3,227500874	5,8490	428,0600
060912-200213	06/09/2012	0,964822649	6,4365	152,8700
130912-091013	13/09/2012	6,451235622	6,5430	820,1350

Tabla 7: Concentración de AMPA en muestras de harinas de trigo.

DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO (AMPA), PRINCIPAL METABOLITO DEL GLIFOSATO, EN HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACION

Por medio del grafico presentado en la figura 9, comparamos las concentraciones obtenidas de las muestras y la época del año, para buscar relación entre las fumigaciones estacionarias debido a los laboreos de los cultivos y la obtención de altas concentraciones de AMPA en las harinas.

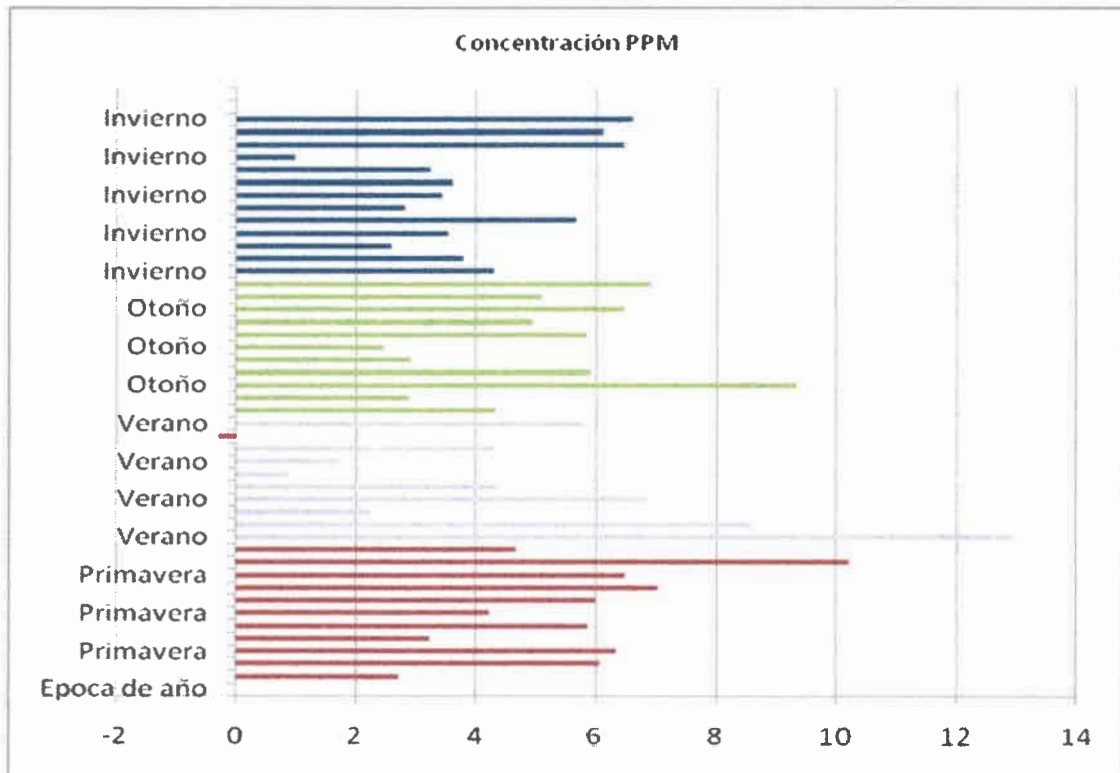


Figura 9: Relación entre épocas del año y concentraciones de AMPA en harinas de trigo

CAPITULO V

DISCUSIÓN

V. DISCUSIÓN

V.1 Método para la determinación de AMPA en harina de trigo.

V.1.1 Clean up de la muestra.

La baja concentración de los residuos de plaguicidas y la diversidad de las matrices en que se pueden encontrar, hacen que su determinación y cuantificación resulten dificultosas.

Su diferente composición química obliga a adaptar procedimientos especiales para cada caso en particular dependiendo del tipo de plaguicida y de la muestra a analizar, ya que no existen procedimientos universales de análisis. Por otra parte se encuentran al nivel de trazas en muestras generalmente de matriz compleja, resultando graves los problemas de interferencias.

La extracción de residuos de xenobióticos de los alimentos depende principalmente de la polaridad del compuesto que se quiere determinar y de la composición de la muestra. El proceso de extracción generalmente involucra prácticas como homogeneización, extracción con solventes orgánicos, soluciones acuosas a pH determinado o mezclas. El proceso de clean-up tiene como objetivo eliminar los constituyentes de la muestra que interfieren en el análisis, remover sustancias que han sido co-extraídas y que pueden interferir en la posterior determinación, y comúnmente involucra varios pasos empleando extracciones liquido-liquido, cromatografía en columnas con diferentes adsorbentes, cartuchos de extracción en fase sólida, dispersión en fase sólida, para mencionar los más frecuentemente empleados (Tadeo et al., 2000).

En algunos casos la preparación de la muestra puede incluir una pre concentración con el pasaje de las muestras por sistemas de membranas de fibra hueca (Rios et al., 2002), o por membranas polimericas hidrofobicas conteniendo un solvente organico inmovilizado en sus poros que permite una extracción y clean-up simultaneo de jugos de frutas (Khrolenko y Wieczorek, 2005).

En muestras de agua y suelos, una simple filtración por papel Whatman N° 1 de la muestra o del resultado de la extracción con solución salina, resulta suficiente como paso previo a la derivatización (Peruzzo et al., 2008).

En muestras de suero y contenido gástrico, en laboratorios de medicina forense, el sobrenadante de las muestras se analiza por HPLC luego de una precipitación con acetonitrilo (Pongraveevongsa et al., 2008).

En el presente trabajo el procedimiento de extracción y clean-up se realiza mediante extracción por duplicado seguido de calentamiento a 100°C. Esta técnica permitió en forma simple y económica precipitar diferentes sustancias que enmascaraban la señal y dejar el analito en solución con un alto rendimiento. Los porcentajes de recuperabilidad obtenidos aplicando esta metodología resultan de muy buen nivel teniendo en cuenta los resultados previamente obtenidos por Khrolenko y Wieczorek, (2005), cuando evaluaron la recuperabilidad de AMPA en jugos de frutas utilizando una metodología similar. Los valores obtenidos por estos autores variaron entre 38,8 y 99,3%.

Lorenzatti (2005) por su parte obtuvo recuperaciones del 92,1% para glifosato y 95,1% para AMPA en muestras de soja empleando otro tipo de método.

V.1.2 Cuantificación de AMPA

Para la determinación de glifosato y AMPA se han descrito una gran variedad de métodos analíticos, con diferentes sistemas de detección.

El análisis por cromatografía de gases después de un procedimiento de derivatización que convierte a los analitos en derivados suficientemente volátiles y térmicamente estables permite la cuantificación simultánea de plaguicidas y metabolitos.

Para mejorar la sensibilidad y selectividad de la detección se han desarrollado métodos que emplean cromatografía líquida produciendo derivados fluorescentes. También la electroforesis capilar se ha convertido en una técnica muy utilizada. El ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) es un método alternativo de reciente desarrollo. (Khrolenko y Wieczorek, 2005).

Otros autores para la determinación de residuos de glifosato y AMPA en productos vegetales, tales como arroz, trigo, verduras, frutas, y otros como miel, carnes de pollo y cerdo desarrollaron un método utilizando cromatografía líquida

de alta resolución acoplada a espectrometría de masas. En este método, los analitos se extraen con agua, diclorometano y se purifican utilizando un cartucho de extracción sólida de intercambio de cationes. Luego, los productos de reacción con 9-fluorenilmetil cloroformiato en solución buffer de borato, se analizan por HPLC utilizando un espectrómetro de masas como detector (Li et al., 2007).

La técnica de HPLC ha alcanzado un gran desarrollo y utilidad en la actualidad, de aplicación en el estudio de macromoléculas, especies iónicas y compuestos termolábiles, por su rapidez en el análisis por la operación a altas presiones, la alta reproducibilidad y eficiencia en las separaciones, la posibilidad de uso de diferentes detectores y la factibilidad de reutilización de las columnas cromatográficas. La ausencia de grupos cromóforos o fluoróforos en la estructura química de la molécula del AMPA hace necesaria la derivatización para su determinación por HPLC (Kawai et al., 1991; Khrolenko y Wieczorek, 2005; Tadeo et al., 2000).

Otros autores emplean como derivatizante pre columna al reactivo fluorescente FMOC-Cl para determinar glifosato y AMPA en aguas ambientales empleando grandes volúmenes de muestra, cromatografía líquida y detector de fluorescencia (Hidalgo et al., 2004). Por otra parte el mismo derivatizante es empleado en aguas superficiales, sedimentos y suelos de la Pampa Ondulada Bonaerense, Argentina determinando los analitos mediante HPLC y detección UV (Peruzzo et al., 2008).

Algunos autores describen una determinación de estos analitos mediante derivatización pos columna con orto-ftalaldehído con o sin combinación con 2-mercaptoetanol y detección por fluorescencia (Wigfield y Lanouette, 1991).

Las condiciones del método empleado en este trabajo para cuantificar AMPA en muestras de extractos de harina de trigo explicados en los puntos **II.2.2** y **II.2.3** resultan sencillas, de fácil implementación dando excelentes resultados.

En cuanto al límite de cuantificación obtenido resulta muy bueno teniendo en cuenta los límites máximos de residuos aceptables para xenobióticos relacionados. Otros autores, en el análisis de residuos de AMPA en arroz, trigo,

verduras, frutas, miel y músculos de cerdo, pollo, peces, mediante HPLC acoplada a espectrometría de masas determinaron un límite de cuantificación de 0,05 ppm (Li et al., 2007); mediante cromatografía líquida y detección de fluorescencia obtuvieron valores de 0,1 ppm (Hidalgo et al., 2004); mediante HPLC y detección UV 0,1 ppm para aguas superficiales y 0,25 ppm para sedimentos y suelos (Peruzzo et al., 2008) y por HPLC y detección de fluorescencia en plantas y granos de soja 0,15 ppm (Arregui et al., 2004).

La recuperabilidad lograda mediante el desarrollo de este simple método es altamente satisfactoria. Con el empleo de otros métodos, otros autores obtuvieron recuperabilidades de 80 a 104% en muestras desgrasadas de productos vegetales y carnes de pollo y cerdo (Li et al., 2007), 87 a 106% levemente mejorada a 94 a 105% luego de una pre concentración con una resina de intercambio aniónico Amberlite® (Hidalgo et al., 2004), 86% en aguas superficiales (Peruzzo et al., 2008), un rango del 60 a 80% realizando extracción de Glifosato y AMPA en mezclas de jugos de frutas, por Khrolenko y Wieczorek, (2005).

Un mayor valor de recuperabilidad, de 92.1% se obtuvo en laboratorios forenses con muestras de suero y contenido estomacal en el diagnóstico de intoxicaciones agudas (Pongraveevongsa et al., 2008).

El método empleado en este trabajo permite una sensible y específica cuantificación de los residuos de AMPA, sin interferencia de sustancias endógenas, a nivel micromolar con buena especificidad y excelentes niveles de precisión.

V.2 Valores hallados

El uso excesivo y el mal uso de los plaguicidas dejan secuelas en los alimentos que se trasladan a los consumidores generando un sin número de problemas de salud. *“Hemos analizado las características principales de 63 brotes de toxicidad causados por exposición alimentaria a los pesticidas. . . las que, probablemente, constituyen la superficie de los problemas de la salud pública causados por plaguicidas. . .”* (Ferrer y Cabral, 1991). Las intoxicaciones a gran

escala por contaminación con plaguicidas son poco usuales pero pequeñas cantidades de residuos en los alimentos pueden producir riesgos perdurables en la salud humana. En muchos países, la preponderancia de los productos tóxicos aplicados por usuarios inexpertos, suscita preocupación sobre la seguridad de los consumidores.

En nuestro país no existen determinaciones anteriormente realizadas sobre presencia de AMPA en harinas de trigo, y hay muy pocos trabajos realizados sobre su presencia como contaminante en alimentos en general. En este trabajo se analizaron muestras de harinas que fueron utilizadas para el consumo en elaboración de panificados de la zona de Río Cuarto, dando como resultado en algunas muestras (Tabla 8) concentraciones superiores a lo recomendado.

No se encuentra el glifosato como contaminante dentro de los límites máximos establecidos por el CODEX para los granos de trigo y para la harina, solo se encuentra como parámetro en los cereales en grano y establece como límite máximo 30 mg/kg (CODEX, 2010).

La SAGPyA-SENASA en 2008 aprobó la resolución n° 507/08 donde establece para el grano de trigo consumo un límite máximo de residuo de glifosato/glifosato ácido: 5 mg/kg. No estableciendo límite para la harina de dicho cereal.

Los datos recolectados en este trabajo **confirman la hipótesis planteada**, la harina de trigo utilizada en la elaboración de productos de panificación, posee niveles del metabolito AMPA que pueden impactar en la salud de los consumidores.

Debido a que no se encuentran datos previos sobre concentraciones de AMPA en harinas, es necesario que se continúe la investigación, no solo en este alimento, sino que también en otros productos que pueden tener riesgo de contaminación como frutas, hortalizas frescas, legumbres, frutas seca, etc....

La necesidad de tener datos ciertos sobre los niveles de contaminación de los alimentos que consumimos es fundamental para que luego se puedan implementar medidas destinadas a disminuir esos niveles, sin las cifras es

imposible plantear medidas correctivas, las medidas preventivas (Buenas Practica Agrícolas) están al alcance de todas las producciones, pero como se puede observar con este trabajo, no siempre dan resultado para evitar que un alimento sea nocivo.

Si se pudieran obtener una imagen completa de la composición de los alimentos en lo que respecta a contaminantes, tendríamos un testeo certero de los productos usados para su elaboración/producción y de esta manera poder dejar nuestro aporte para que luego las instituciones que se dedican al establecimiento de legislaciones puedan actuar y en un futuro se puedan tomar medidas.

Los resultados obtenidos no muestran tener relación con la época de año en que se realiza el muestreo (figura 9), por lo tanto no podemos hacer referencia a que las fumigaciones realizadas en el campo tengan directamente influencia sobre el valor de la concentración de AMPA hallado en las harinas listas para consumo.

Las causas de esta falta de relación puede deberse a los muchos factores que intervienen en la comercialización y procesado del trigo, el acopio es un factor que puede influir mezclando partidas, también los molinos trabajan con diferentes proveedores, que van rotando de acuerdo al volumen o precio del grano.

El ensayo fue realizado con muestras de una misma marca de harina durante todo el trabajo pero la procedencia del trigo y las exposiciones a plaguicidas y en especial a glifosato a las que fueron expuestos los cultivos son inciertas y casi imposibles de predecir, debido a la falta de reglamentación en lo que respecta a buenas prácticas agrarias y a la ausencia de trazabilidad en la cadena de producción-comercialización.

Li et al., (2007) analizaron AMPA en un conjunto de alimentos encontrando valores cuantificables en muestras de soja de EEUU con valores de 1,5-2,8 mg/kg. También encontraron valores significativos en soja procedente de Argentina con valores de AMPA: 2,5-2,8 mg/kg.

Hjorth et al., (2010) realizaron un informe donde describen la presencia de glifosato en muestras de trigo tomadas en 2009, las cuales tenían como destino el

consumo animal, los resultados fueron: 5 muestras de trigo con valores entre 0,05-0,71 mg/kg y una muestra positiva de cebada con valor de 1,44 mg/kg.

Los **resultados del trabajo** muestran que de las 45 muestras de harina analizadas 22 superan el límite de AMPA estipulado por la legislación, (Tabla 10) cabe recordar que no hay límites estipulados para harina de trigo, pero tomaremos el límite máximo de detección para grano de trigo como parámetro.

Legislación trigo grano 5 mg/kg = 5ppm

La OMS en 2005 propone establecer como límite de glifosato para la harina de trigo 0,1 ppm (OMS, 2005).

Por lo tanto si tomamos este límite como parámetro, estaríamos hablando de concentraciones muy superiores a lo establecido como inocuo. Pero este valor aún no está descripto como legislación.

DETERMINACION DEL ACIDO AMINOMETILFOSFONICO (AMPA), PRINCIPAL METABOLITO DEL
GLIFOSATO, EN HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACION

Muestra	Orden de fecha	Concentración PPM
100910-260211	10/09/2010	6,107915991
160910-070311	16/09/2010	6,597262605
300910-110311	30/09/2010	6,060884778
081010-250311	08/10/2010	6,323215346
191010-160411	19/10/2010	5,861248791
111110-280511	11/11/2010	5,978086822
231110-090511	23/11/2010	7,021077966
261110-180511	26/11/2010	6,475614564
091210-010611	09/12/2010	10,21118375
241210-170611	24/12/2010	12,93702076
070111-160611	07/01/2011	8,596048038
210111-030711	21/01/2011	6,867979857
030311-200811	03/03/2011	4,304737648
180311-020911	18/03/2011	5,793333089
070411-180911	07/04/2011	9,347026328
140411-071011	14/04/2011	5,925341152
060511-251011	06/05/2011	5,836623182
270511-221111	27/05/2011	6,452304514
020611-221111	02/06/2011	5,099006032
160611-281111	16/06/2011	6,896922142
290711-180112	29/07/2011	5,67312394
130912-091013	13/09/2012	6,451235622

Tabla 8: Concentración de AMPA en muestras de harinas de trigo con resultados superiores a los establecidos para grano de trigo

CAPITULO VI

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

VI. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

VI.1 Del método.

- A) La modificación de la técnica que se implementó en el trabajo, favoreció el contacto y aumento la eficiencia de extracción de los residuos.
- B) La técnica que se utilizó para la extracción y valoración de residuos de plaguicidas en el presente trabajo, permite obtener resultados equivalentes a los que se consiguen con la técnica de referencia, ya comparada en el punto VII. (Discusión), pero el procedimiento resulta más sencillo y menos costoso.

VI. 2 De los valores hallados.

- A) Los **resultados del trabajo** muestran que de las 45 muestras de harina analizadas 22 superan el límite de AMPA y glifosato, estipulado por la legislación (SAGPyA-SENASA, 2008).
- B) El AMPA presente en los alimentos es un contaminante nocivo causante de varias alteraciones en la salud de los seres vivos.
- C) Se supone que el consumo de estas harinas podría causar daño a la salud a largo plazo, por lo tanto es necesario continuar con esta línea de investigación, ya que lo realizado es solo un comienzo en la búsqueda de este tipo de contaminantes de alimentos.
- D) El trabajo deja en evidencia, un gran vacío legal en lo que respecta a la salud alimentaria, la ausencia de valores máximos de residuos plantea la urgente necesidad de la determinación de límites de presencia de xenobioticos que sean acordes a la salud de los consumidores y no solo por exigencia de exportación.

CAPITULO VII

BIBLIOGRAFIA

VII. BIBLIOGRAFIA

AAPRESID (2014). Volver a la labranza convencional, un grave error.

En: <http://www.aapresid.org.ar>

AAPRESID (2012). Evolución de la superficie en Siembra Directa en Argentina. En:

<http://www.aapresid.org.ar>. Accedido en Abril de 2013.

Achiorno C L, de Villalobos C, Ferrari L (2008). Toxicity of the herbicide glyphosate to *Chorododes nobilii* (Gordiida, Nematomorpha) *Chemosphere* 71:1816-1822

Adam A, Marzuki A, Rahman HA (1997). The oral intracranial toxicities of roundup and its components in rats. *Vet. Human Toxicol.* 39:147-151.

Adamovics J (1990). Chromatographic análisis of pharmaceuticals. Chromatographic Science Series, V 49. Marcel Dekker, Inc USA.

Arinbruster David A, Tillman Margaret D and Hubbs Linda M (1994). Limit of Detection (LOD)/Limit of Quantitation (LOQ): Comparison of the Empirical and the Statistical Methods Exemplified with GC-MS Assays of Abused Drugs. *Laboratory Management and Utilization CLINICAL CHEMISTRY*, Vol. 40, No. 7, 1994 1233

Arregui M, Lenardon A, Sanchez D, Maitre M, Scotta R, Enrique S (2004). Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate resistant soybean. *Pest Management Science* 60(2):163-166.

Benachour N, Séralini G E (2009). Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells. *Chem Res Toxicol.* 2009 Jan; 22(1):97-105 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> .Accedido Octubre 2012

Benetoli Luís Otávio de B, Henrique de Santana, Cristine E. A. Carneiro, Dimas A. M. Zaia, Ailton S. Ferreira, Andrea Paesano Jr, Cássia Thaís B. V. Zaia (2010). Adsorption of glyphosate in a forest soil: a study using Mössbauer and FT-IR spectroscopy *Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, 86051-990 Londrina - PR, Brasil São Paulo Quím. Nova* vol.33 no.4

Bolognesi C, Carrasquilla G, Volpi S, Solomon K R, Marshall E J P (2009). Biomonitoring of Genotoxic Risk in Agricultural Workers from Five Colombian Regions: Association to Occupational Exposure to Glyphosate, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 72: 986–997.

Borggaard O.K. y A.L. Gimsing (2008). Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest Manag Sci* 64(4)

Bromilow Richard H, Avis A. Evans, Peter H. Nicholls, Alan D. Todd, Geoffrey G. Briggs (1996). The Effect on Soil Fertility of Repeated Applications of Pesticides over 20 Years IACR-Rothamsted, Harpenden, Herts, AL5 2JQ, UK *Pesticide Science* 03/1999; 48

CAA. Código Alimentario Argentino (2014). Capítulo IX Alimentos Farináceos - Cereales, Harinas y Derivados.

En: <http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/marco/CAA/Capitulo09>

Callejón Raquel (2007). Desarrollo de un método de HPLC para la determinación de aminoácidos en vinagre y su validación en muestras reales. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. Facultad de Farmacia.

En: www.fe.urv.cat/media/upload/arxiu/winegar/41.pdf. Accedido Abril de 2013

Casabé N, Piola L, Fucks J, Oneto M L, Pamparato L, Basack S, Giménez R, Massaro R, Papa J C, Kesten E (2007). Ecotoxicological assesment of the effects of glyphosate and chlorpyrifost in an argentine soya field. *J. Solis Sediments* 7 (4): 232-239

CASAFE (2012). Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes. Mercado Argentino de productos Fitosanitarios. En: www.Casafe.org

Carballo M. A y Mudry M. D (2006). Indicadores y marcadores biológicos, Cap. 4, pp. 83-108. De: Mudry M. D, Carballo M. A (Eds.), *Genética Toxicológica*, De los Cuatro vientos Editorial, Buenos Aires, Argentina.

Carrasco A. E, Paganelli A, Gnazzo V, Acosta H, López S. L (2010). Glyphosate-Based Herbicides Produce Teratogenic Effects on Vertebrates by

Impairing Retinoic Acid Signaling. *Chem Res Toxicol.* 2010 Aug 9. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 20695457

Chávez Viamontes José Ángel, Quiñones Hernández Judith, Bernárdez Hernández Oscar (2009). Talidomida, contextos históricos y éticos. *Rev Hum Med* v.9 n.3 Ciudad de Camaguey sep.-dic. En: <http://scielo.sld.cu/scielo>

Codex (2010). Base de datos en línea del Codex Alimentarius sobre residuos de plaguicidas en los alimentos y piensos.

En:<http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/pesticides/details.html?id=158>

Accedido en octubre de 2012

CONICET (2009). Evaluación de la información científica vinculada al glifosato en su incidencia sobre la salud humana y el ambiente CNISA/CCI/CONICET Buenos Aires 2009. (pag. 59)

En:www.msal.gov.ar/agroquimicos/pdf/INFORME-GLIFOSATO-2009-CONICET.pdf. Accedido en Abril de 2013.

Darwent A.L, K.J. Kirkland, L. Townley-Smith, K.N. Harker, A.J. Cessna, O.M. Lukow, and L.P. Lefkovitch (1994). Effect of preharvest applications of glyphosate on drying, yield and quality of wheat. *Can. J. Plant Sci.* 74: 221-230.

David L, Jorge (2004). Fortificación de Harina de Trigo en América Latina y Región del Caribe. *Rev. chil. nutr.* [online], vol.31, n.3, pp. 336-347. En: <http://www.scielo.cl/scielo.php>

Dellegrave E, DiGiorgio Mantese F, Soares Coelho R, Drawans Pereira J, Dalsenter P R & Langeloh A (2003). The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup in Wistar rats. *Toxicology Letters* 142:45-52.

Diggle G (2001). Thalidomide: 40 years on. *Int J Clin Pract* 2001; 55 (9):627-31.

Doublet J and Barriuso E (2009). Delayed degradation in soil of foliar herbicides glyphosate and sulcotrione previously absorbed by plants: Consequences on herbicide fate and risk assessment. *Chemosphere* (online), doi:10.1016/j.chemosphere.2009.06.044.

Dow Agro Science (2013) Manual Línea Trigo. En: <http://www.dowagro.com>

Eberbach P.L (1998). Applying non-steady-state compartmental analysis to investigate the simultaneous degradation of soluble and soluble and sorbed glyphosate (N-phosphonomethyl) glycine in four soils. *Pesticide Science*, v 52 n 3.

Elliott J.A, Cessna A.J, Nicholaichuk W y Tollefson L.C (2010). Leaching rates and preferential flow of selected herbicides through tilled and untilled soil. *J. Environm. Qual.* 29, 1650-1656.

FAO (1992). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Conferencia Internacional sobre Nutrición (CIN), celebrada en la sede de la FAO en Roma.

FAO (1996). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Cumbre mundial sobre alimentación. Documentos técnicos de referencia 1-5 volumen 1. 13-17 de Noviembre 1996.

FAO (2013). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Departamento de Agricultura. Capitulo 10, Herbicidas. En: www.fao.org

FAO (2007). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Buenas Practica Agrícolas. Principios Generales. En: <http://www.fao.org/prods/gap/home/principles>

FAS-USDA (2011). United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service. Assessment of global wheat production.

Feng JC, Thompson DG, Reynolds PE (1990). Fate of glyphosate in a Canadian forest watershed. 1. Aquatic residues and off-target deposit assessment. *J Agr Food Chem* 38:1110-1118. I. R (1991) Epidemias tóxicas causadas por la exposición alimentaria a los pesticidas: Una revisión.

PubMed, volumen 8, número 6. En: <http://www.tandfonline.com/>

Ferrer A and Cabral. R (1991). Toxic epidemics caused by alimentary ee to pesticides: A review. *Food Additves & Contaminants* 8, 755-766.

Flury M (1996). Experimental evidence of transport of pesticides through field soils-A review. *Journal of Environmental Quality*, Volumen 25, no 1.

En: http://akasha.wsu.edu/~flury/theses_articles/pesticides.pdf. Accedido Abril 2013.

Font Tullot Inocencio (2000). Climatología de España y Portugal. Ediciones Universidad Salamanca. Índices Hídricos Pag: 154-155. En: <http://books.google.com.ar>. Accedido Abril 2013.

Garza G, Ana G (2001). Generalidades. Clasificación. Composición Química. Modificaciones del trigo. Peligros del trigo en el campo. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Salud Pública y Nutrición. Licenciatura en Nutrición.

Gasnier C, Dumont C, Benachour N, Clair E, Chagnon MC, Séralini GE (2009). Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines Toxicology. Aug 21;262(3):184-91. Epub 2009 Jun 17. En: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. Accedido Octubre 2012

Gil Emilio (2008). Elementos Clave en la Uniformidad de Distribucion de Abonos. Escuela Superior de Agricultura de Barcelona. En: <http://ocw.upc.edu/sites/default/files/materials/15013054/28076-3828.pdf>. Accedido Abril 2013.

Herrera Vania, Tlcona Juan Carlos y Udaeta Enrique (2002). Validacion de Metodos Analiticos. PAHO/WHO. Guia de Validacion de Metodos Analiticos de Costa Rica.

Validacion del metodo analitico para la cuantificacion de alcaloides quinolinicos del extracto de Galipea longiflora Krause Kallunki. BIOFARBO, dic 2008, vol 16Nº1, p 47-53. ISSN 1813-5363.

Hidalgo C, Rios C, Hidalgo M, Salvadó V, Sancho JV, Hernández F (2004). Improved coupled-column liquid chromatographic method for the determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid residues in environmental waters. J Chromatogr A. 1035(1):153-7.

Hjorth K, Hermann SS, Christensen HB, Poulsen ME (2010). Cereals and feeding stuff-production, consumption and pesticides (version 4). CRL for Cereals and Feeding Stuff National Food Institute Danish Technical University. En UNL:

<http://www.eurl-pesticides-eu/docs/public/home.asp?labID=100&Lang=EN>

Accedido Diciembre de 2012.

Hoeijmakers J.H.J (2001). Genome maintenance mechanisms for preventing cancer Nature Vol 411 pp 366-374

INDEC (2013). Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. Republica Argentina. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Subsecretaría de Agricultura. Dirección de Información Agropecuaria y Forestal. Acceder en: www.indec.gov.ar

INTA (1997). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Guía práctica para el cultivo del trigo, inta y biblioteca del productor de cambio rural. En: www.inta.gov.ar

PDF descargado en Marzo de 2013.

INTA (2014). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, estación experimental Marcos Juárez, Almacenamiento de granos, Cuniberti Martha. En: www.inta.gov.ar

PDF descargado en Julio de 2015.

INTA (2014). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, estación experimental Manfredi. Evolución y perspectiva mundial y nacional de la producción y el comercio de trigo. Noelia A. Barberis.

INTA (2014). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Causas que afectan la adopción de tecnología en pequeños y medianos productores de girasol, maíz, soja y trigo en la provincia de La Pampa: enfoque cualitativo. Sonia Calvo et al. -- Buenos Aires: Ediciones INTA; Universidad Nacional de Córdoba, 2014. Estudios socioeconómicos de la adopción de tecnología; no. 9.

Jaynes D.B, Ahmed S.I, Kung K-J.S y R.S Kanwar (2001). Temporal dynamics for preferential flow to a subsurface drain, Soil Sci Soc Am J 65:1368-1376

Kawai S, Uno B, Tomita M (1991). Determination of Glyphosate and its Major Metabolite Aminomethylphosphonic Acid (AMPA) by HighPerformance

Liquid Chromatography after Derivatization with P-Toluenesulfonyl Chloride. J Chromatogr.540:411-5.

Khrolenko MV, Wieczorek PP (2005). Determination of glyphosate and its metabolite aminomethylphosphonic acid in fruit juices using a supported-liquid membrane preconcentration method with high performance liquid chromatography and UV detection after derivatization with p-toluenesulphonyl chloride. Journal of Chromatography A 1093(1-2):111-117.

Kolpin D.W, Thurman E.M, Lee E.A, Meyer M.T, Furlong E.T, Glassmeyer S.T (2005).

Urban contributions of glyphosate and its degradate AMPA to streams in the United States. Sci Total Environ. 2006 Feb 1;354 (2-3):191-7.

Laitinen, Pirkko (2009). Fate of the organophosphate herbicide glyphosate in arable soils and its relationship to soil phosphorus status. En: <http://orgprints.org/16105/1/mtttiede3.pdf>. Accedido en Febrero de 2013.

León Alberto Edel, Rosell Cristina M (2007). De tales harinas, tales panes. Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica. 1ª ed. Córdoba.

Lezcano Elizabeth P (2011). Productos panificados, Alimentos Argentinos Edición nº 51. Pag.: 26-38. En: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/revista/revista_51

Lezcano Elizabeth P (2011). Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentos. Informe Sectorial Nº 13 Farináceos. Cadena de la Harina de Trigo – primera parte. En:<http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/sectores/farinaceos/Productos/HarinaTrigo>.

Li B, Deng X, Guo D, Jin S (2007). Determination of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid Residues in Foods Using High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry Chin J Chromatogr 25(4): 486-490

López S, Aiassa D, Benítez-Leite S, Lajmanovich R, Mañas F, Poletta G, Sánchez N, Simoniello M.F, Carrasco A.E (2012). Pesticides Used in South

American GMO-Based Agriculture: A Review of Their Effects on Humans and Animal Models. En: James C. Fishbein & Jacqueline M. Heilman (editors) *Advances in Molecular Toxicology*, Vol. 6, Amsterdam: Holanda, pp. 41-75

Lorenzatti Eduardo Antonio (2005). Estudio de Residuos de Endosulfán y Glifosato en la Producción y Procesado de Soja Transgénica (glycine max) Valencia, España.

MAGyA (2014). Res. N° 125/95, SENASA Plan Nacional de Control Higienico Sanitario y de Residuos Químicos en Productos, Subproductos y Derivados de Origen Animal (Plan CREHA) En: <http://www.senasa.gov.ar>

Mamy Laure, Gabrielle Benoît , Barriuso Enrique (2010). Comparative environmental impacts of glyphosate and conventional herbicides when used with glyphosate-tolerant and non-tolerant crops Volume 158, INRA-AgroParisTech, UMR 1091 Environnement et Grandes Cultures, 78850 Thiverval-Grignon, France.

Mañas F, Peralta L, Ugnia L, Weyers A, Garcia Ovando H, Gorla N (2013). Oxidative stress and comet assay in tissues of mice administered glyphosate and AMPA in drinking water for 14 days, *J Basic & Applied Genetics* Vol XXIV Issue 2.

Mallory-Smith Carol A. y E. JAMES Retzinger JR (2003). Revised classification of herbicides by sites of action for weed resistance management Strategies. *Weed Technol.* 17:605-619.

Martino, Daniel L (1995). El Herbicida Glifosato: su manejo más allá de la dosis por hectarea. INIA La Estanzuela. Serie técnica N° 61.

En: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/2967/1/15630291007131821.pdf>

Mellado Mario Z. Alberto Pedreros L (2005). Efecto de Herbicidas Aplicados Durante la Madurez del Grano de Trigo en el Rendimiento y Calidad del Grano *Agricultura Técnica (Chile)* 65(3):312-318. En: <http://www.scielo.cl/scielo.php>

Moreno C. Patricia (2009). "Vida y obra de Granos y semillas", capítulo XI Las semillas y la civilización. En: <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx>.

Newton M, Howard K.M, Kelpsas B.R, Danhaus R, Lottman C.M, Dubelman S (1984). Fate of glyphosate in an Oregon forest ecosystem. *J Agr Food Chem* 32:1144-1151.

Oates L, Cohen M (2011). Assessing diet as a modifiable risk factor for pesticide exposure. *Int J Environ Res Public Health*. 2011 Jun;8(6):1792-804. Epub 2011 May 25. En: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.

Olivares Manuel y Walter Tomás (2004). Causas y consecuencias de la deficiencia de hierro. Laboratorio de Micronutrientes, INTA, Universidad de Chile *Rev.Nutr.* vol.17 no.1 Campinas Jan./Mar
En: <http://www.scielo.br/scielo>

OMS, Organización Mundial de la Salud (2005). Residuos de plaguicidas en los alimentos Informe de la Reunión Conjunta del Cuadro de Expertos en Residuos de Plaguicidas en el Grupo Básico de Evaluación de la OMS Alimentación y Medio Ambiente y la FAO sobre Residuos de Plaguicidas. En :
<http://www.fao.org/docrep/009/a0209e/a0209e0d.htm>
<http://www.fao.org/docrep/009/a0209e/a0209e0d.htm#TopOfPage>

OMS, Organización Mundial de la Salud (2008). Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005.

OMS, Organización Mundial de la Salud (2009). Directrices para la clasificación de los Plaguicidas por Riesgo. Recomendada por la OMS. En:
http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf

Osborne Thomas B (1907). *The Proteins of the Wheat Kernel*. Carnegie Institution of Washington.

Paz y Miño C, Sánchez M.E, Arévalo M, Muñoz M.J, Witte¹ T, Oleas De la Carrera G, Leone P.E (2007). Evaluation of DNA damage in an Ecuadorian population exposed to glyphosate
Genetics and Molecular Biology, 30, 2, 456-460

Pérez G.L, Torremorell A, Mugni H, Rodríguez P, Solange Vera M, do Nascimento M, Allende L, Bustingorry J, Escaray R, Ferrero M, Izaguirre I, Pizarro H, Bonetto C, Morris DP, -Zagarese H (2007). Effects Herbicide Roundup on Freshwater Microbial Communities: a mesocosm Study. *Ecological Applications*. 17:2310-2322.

Peruzzo P, Porta A, Ronco A (2008). Levels of glyphosate in surface Waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environmental Pollution* 156:61-66.

Petersen I, Bruun H, Ravn H, Sorensen J, Sorensen H (2007). Metabolic effects in rapessed (*Brassica napus* L.) seedlings alter root exposure to glyphosate. *Pesticide Biochemisry and Physiology* 89.

Pongraveevongsa Pattaravadee M S.c, Khobjai Warachet M S.c, Wunnapak Kintean M S.c, Sribanditmongkol Pongruk M.D (2008). High-performance liquid chromatography/uv detection for determination of glyphosate in serum and gastric content. *Chiang Mai Medical Journal* 47(4):155-162.

Repetto Jimenez Manuel y Repetto Kuhn Guillermo (2009). *Toxicologia Fundamental*, cuarta edición. Ediciones Diaz de Santos. En: books.google.com.ar
-Rios C, Salvado V, Hidalgo M (2002). Facilitated transport and preconcentration of the herbicide glyphosate and its metabolite AMPA through a solid supported liquid-membrane. *Journal of Membrane Science* 203(1-2): 201-208.

SAGPyA (2008). Res. N° 507/08 Anexo I. Límite Máximo de Residuos en productos Agropecuarios. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), Argentina.

SAGPyA (2010). plan anual 2009 de Residuos y Toxinas en alimentos de origen animal. En: <http://www.senasa.gov.ar/archivos/file/file/1823-creh-formatoa.pdf>

Salustiano del Campo (1996). *Estado Actual de la Población Mundial*, Universidad nacional Autónoma de Mexico, Centro de Investigaciones Interdisciplinarias de Cancias y Humanidades, Mexico, D.F Pág. 7-10. En:<http://books.google.es/books>

Sanborn M , KJ Kerr , LH Sanín , DC Cole , KL Bassil , Vakil C (2007). Los efectos no cancerígenos de la salud de los pesticidas: revisión sistemática y las implicaciones para los médicos de familia. PUBMED: Can Fam Physician. 2007 Oct;53(10):1712-20.

En:<http://www.reduas.fcm.unc.edu.ar/wp-content/uploads/downloads/2011/07/McMaster-sist-revision-pesticidas-y-salud.pdf>

SENASA (2002). Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Alimentación - Nutrición - Harina de trigo, Ley 25630. En: <http://www.senasa.gov.ar/>

SICOFHOR (2001). "Sistema de Control de Productos Frutihortícolas Frescos". Creación del Comité técnico asesor frutihortícola. Aprobado por la Resolución SENASA Nº 493/2001

Simoniello M.F, Scagnetti J.A, Kleinsorge E.C (2007). Biomonitorio de población rural expuesta a plaguicidas. Revista FACIBI. Año2007. vol 11, pag 73-85. En:

http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8180/publicaciones/bitstream/1/955/1/FABICIB_11_2007_pag_73_85.pdf

Simoniello M.F, Kleinsorge E.C, Scagnetti J.A, Grigolato R.A, Poletta G.L, Carballo M.A (2008). DNA damage in workers occupationally exposed to pesticide mixtures. J Appl Toxicol. 2008 Nov;28(8):957-65. PubMed PMID: 18636400.

Tadeo J, Sanchez-Brunete C, Perez R, Fernandez M (2000). Analysis of herbicide residues in cereal, fruits and vegetables. Journal of Chromatography A, 882: 175-191.

UCO, Universidad de Córdoba (2010). España Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Memoria de proceso de Elaboración de pan. En:

<http://www.uco.es/dptos/bromatologia/tecnologia/bib-virtual/bajada/mempan.pdf>

USDA (1984). Forest Service. Pesticide background Statements.p.61-672. In USDA:Agriculture Handbook Nº 633, Vol.1. Herbicide, Part 2.

UNESCO (2010). Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura, Programa Hidrológico Internacional (PHI) de la Oficina Regional de Ciencia para América Latina y el Caribe. Proyecto Elaboración del mapa de Zonas Áridas, Semiáridas y Subhúmedas de América Latina y el Caribe. Pag. 22.

En:

http://www.cazalac.org/documentos/Atlas_de_Zonas_Aridas_de_ALC_Espanol.pdf

UNL, Universidad Nacional del Litoral (2010). Informe a cerca del grado de toxicidad del Glifosato.

En: <http://www.unl.edu.ar/noticias/media/docs/Informe%20Glifosato%20UNL.pdf>

Varona Marcela, Gloria Lucía Henao, Sonia Díaz, Angélica Lancheros, Álix Murcia, Nelcy Rodríguez, Víctor Hugo Álvarez (2009). Evaluación de los efectos del glifosato y otros plaguicidas en la salud humana en zonas objeto del programa de erradicación de cultivos ilícitos. Biomédica vol.29 no.3 Bogotá July./Sept. En: scielo.org.co

WHO, World Health Organization (1994). Glyphosate. Geneva, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 159.)

En: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc159.htm#SectionNumber:4.1>

Wigfield Y.Y and Lanouette M (1991). A modified clean-up for the determination of glyphosate and its metabolite residues in lentils using high pressure liquid chromatography and post-column fluorogenic labelling. Pesticide Science 33(4): 491-498.

Wigfield Y.Y, Deneault F, Fillion J (1994). Residues of Glyphosate and Its Principle Metabolite in Cereals, Oilseeds, and Pulses Grown in Canada, 1990-1992 Bull. Environ. Contam. Toxicol. 53:543-547

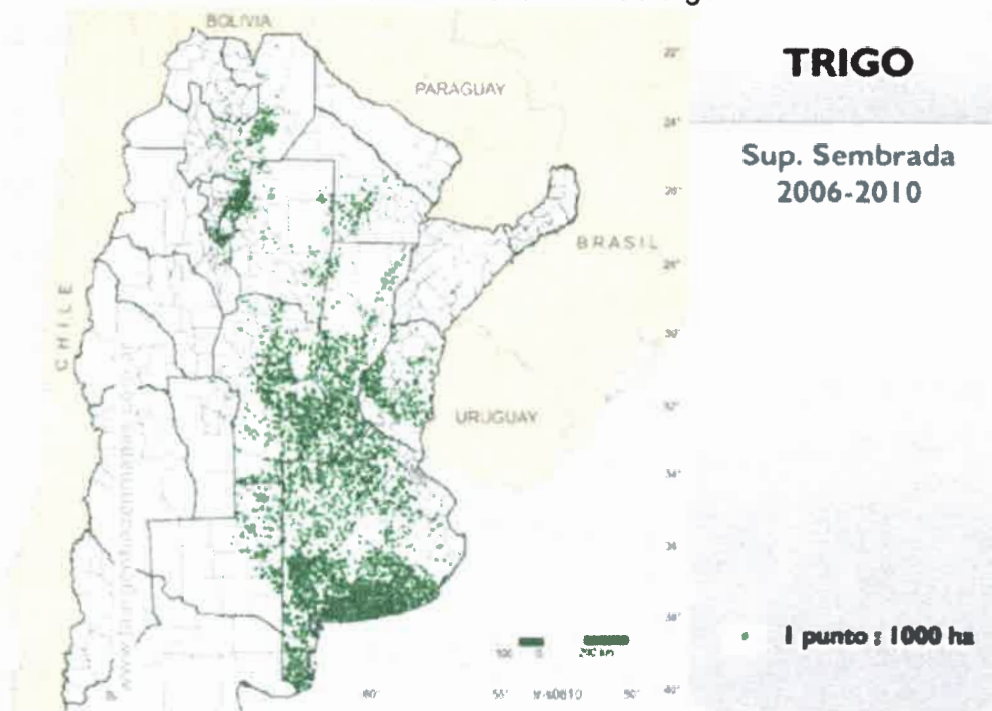
Winchester PD , Huskins J , J Ying (2009). Agroquímicos en la superficie del agua y defectos de nacimiento en los Estados Unidos. Sección de Medicina Neonatal-Perinatal, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, IN, EE.UU. paul.winchester@ssfhs.org

CAPITULO VIII

ANEXOS

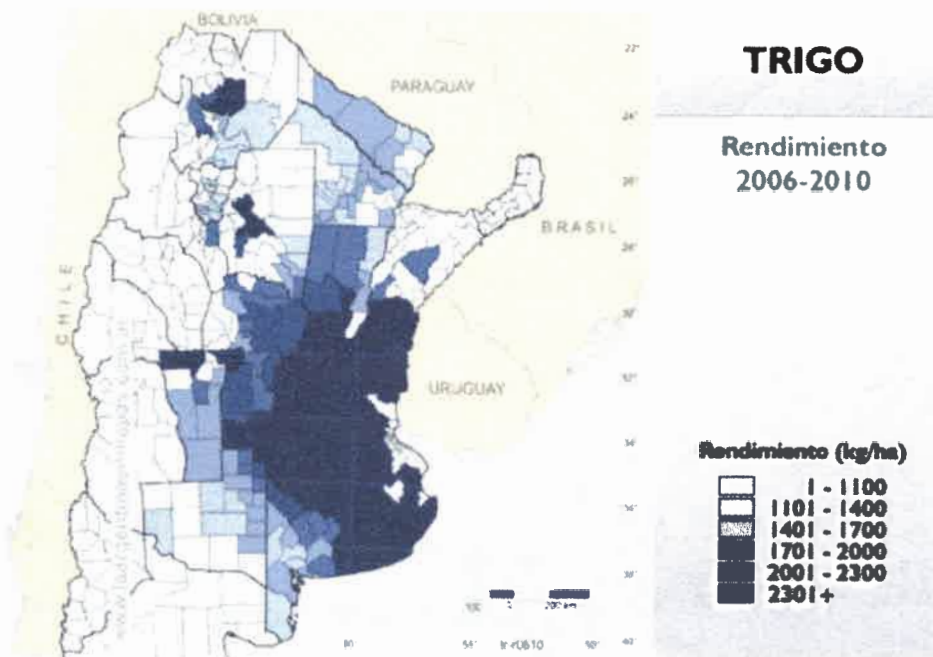
DETERMINACIÓN DEL PRINCIPAL METABOLITO DEL GLIFOSATO, ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO, EN
HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACIÓN

ANEXO 1
Localización del cultivo de trigo



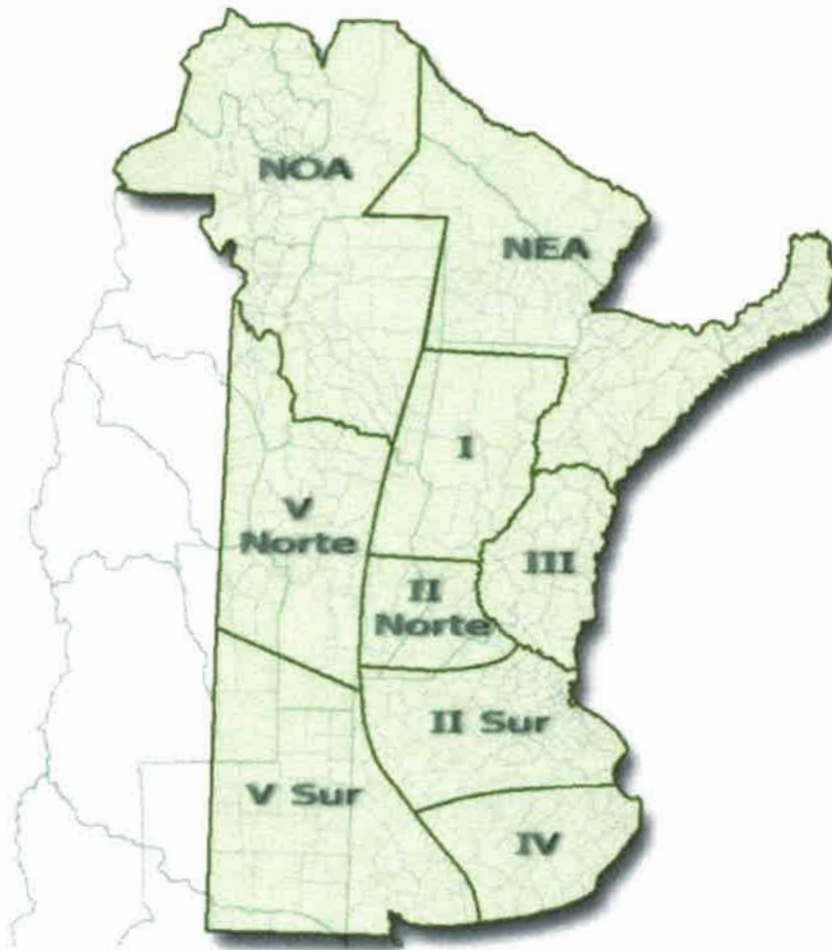
La Argentina en mapas, CONICET

Rendimientos



DETERMINACIÓN DEL PRINCIPAL METABOLITO DEL GLIFOSATO, ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO, EN
HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACIÓN

Zonas Trigueras Argentinas



- Region Noa
- Region Nea
- Region I
- Region II N
- Region II S
- Region III
- Region IV
- Region V N
- Region V S

DETERMINACIÓN DEL PRINCIPAL METABOLITO DEL GLIFOSATO, ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO, EN HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACIÓN

ANEXO 2

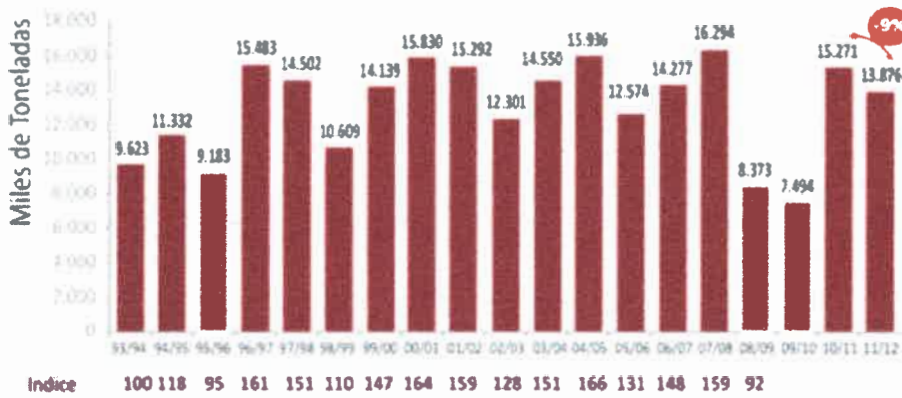


Trigo Blando



Trigo Duro

ANEXO 3



Fuente: Min. Agric. - Dato 11/12: Estimaciones Granotec en base a Estimaciones Agrícolas (11/12) y Bolsa de Cereales

ANEXO 4

Evolución de la producción mundial de trigo (Millones Toneladas)*

País	2007/08**	2008/09**	2009/10**	2010/11**	2011/12** (Ago)	2011/12** (Sep)
EU-27	120.1	151.1	138.8	135.6	133.5	135.8
China	109.3	112.5	115.1	115.2	117.0	117.0
India	75.8	78.6	80.7	80.8	85.9	85.9
Estados Unidos	55.8	68.0	60.4	60.1	56.5	56.5
Rusia	49.4	63.8	61.8	41.5	56.0	56.0
Australia	13.6	21.4	21.9	26.0	25.0	25.0
Paquistán	23.3	21.0	24.0	23.9	24.0	24.0
Canadá	20.1	28.6	26.8	23.2	21.5	24.0
Turquia	15.5	16.8	18.5	17.0	18.5	18.5
Ucrania	13.9	25.9	20.9	16.8	21.0	22.0
Irán	15.9	8.0	13.5	15.5	13.8	13.8
Argentina	18.6	11.0	11.0	15.0	13.5	13.5
Kazakstán	16.5	12.5	17.1	9.7	16.0	16.0
Egipto	8.3	8.0	8.5	7.2	8.7	8.7
Uzbekistán	6.2	6.0	6.2	6.5	6.5	6.3
Marruecos	1.6	3.7	6.4	4.9	5.9	6.1
Otros	48.3	46.0	52.9	49.3	48.8	49.0
Total mundial	612,1	682,8	684,4	648,2	672,1	678,1

Fuente: FAS- USDA

* Datos actualizados al 12 de sep de 2011

** Años comerciales de Estados Unidos

DETERMINACIÓN DEL PRINCIPAL METABOLITO DEL GLIFOSATO, ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO, EN
HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACIÓN

Evolución del consumo mundial de trigo (Millones Toneladas)*

Pais	2007/08**	2008/09**	2009/10**	2010/11**	2011/12** (Ago)	2011/12** (Sep)
EU-27	116.5	127.0	125.0	122.0	126.5	126.5
China	106.0	105.5	107.0	109.5	112.0	113.0
India	76.4	70.9	78.2	81.8	84.7	84.7
Rusia	37.7	38.9	39.6	38.6	41.3	40.6
Estados Unidos	28.6	34.3	31.0	30.8	34.5	34.3
Paquistán	22.4	22.8	23.0	23.2	23.4	23.4
Egipto	15.8	17.2	17.9	17.7	18.3	18.3
Turquía	16.8	16.9	17.1	17.2	17.9	18.1
Irán	15.5	15.8	16.1	15.7	15.0	15.0
Ucrania	12.3	11.9	12.3	11.6	12.0	12.0
Brasil	10.3	10.7	11.0	10.8	10.8	10.8
Argelia	8.1	8.3	8.6	8.8	8.9	8.9
Australia	6.5	6.9	6.7	8.5	8.0	8.0
Marruecos	7.2	7.5	8.1	8.3	8.4	8.8
Uzbekistán	6.9	7.1	7.4	7.8	7.9	7.9
Canadá	6.8	8.0	6.9	7.7	8.0	8.7
Otros	123.8	132.7	136.5	134.8	137.5	137.9
Total mundial	617,6	642,3	652,3	654,7	676,0	676,9

Fuente: FAS- USDA

* Datos actualizados al 12 de sep de 2011

** Años comerciales de Estados Unidos

ANEXO 5

Clasificación de xenobióticos por su NATURALEZA: física, química y biológica.

1.- DE NATURALEZA FÍSICA: (se consideran contaminantes)

- Color tintes (naturaleza química)
- Turbidez minas e industria
- Calor centrales nucleares y térmicas.
- Radiaciones en la naturaleza (rocas y cósmica), uso de la energía nuclear (investigación, medicina, industria).
- Ruido o Contaminación por olores.- Sustancias volátiles olorosas: alcanfor, almizcle, floral, mentolado, éter, ágricos, fétidos.

Todas estas formas de contaminación se estudian en otras materias.

2.- DE NATURALEZA BIOLÓGICA: (se consideran contaminantes)

Seres vivos o compuestos procedentes de ellos: bacterias, virus, hongos, protozoos, materia orgánica, residuos: vegetales, urbanos, fecales, de mataderos, etc.

3.- DE NATURALEZA QUÍMICA:

3A) ORGANICOS: plaguicidas y compuestos industriales.

3A.1.-Plaguicidas:

Insecticidas. Tóxicos para insectos. Acaricidas. Tóxicos para ácaros. Nematicidas. Tóxicos para los nematodos. Fungicidas. Tóxicos para hongos. Antibióticos. Inhiben el crecimiento de microorganismos. Herbicidas. Atacan las malas hierbas. Rodenticidas. Causan la muerte a ratones y otros roedores. Avicidas. Causan la muerte a las aves. Molusquicidas. Eliminan los moluscos. Atrayentes y repelentes de insectos. Repelen a los insectos o los atraen para provocar su destrucción.

3A.2.- Compuestos industriales:

Reunen una gran diversidad de compuestos, con muy variadas aplicaciones: plastificantes y aislantes: PCBs y PCTs (que contienen Cl-dibenzofuranos, Cl-dibenzodioxinas); disolventes: formaldehído, acetaldehído, tolueno; hidrocarburos: polinucleares o policíclicos: benzopireno, dibenzofuranos y dibenzodioxinas; detergentes; ésteres de fósforo, órgano-metales; hidrocarburos sulfonados, nitrosaminas, etc. CFC: cloro-fluoro-carbonados, destruyen la capa de O₃, que nos protege de los rayos UV (260-290 nm).

3B) INORGÁNICOS: ácidos, alcalis, nitratos, nitritos, sulfatos, fosfatos, halógenos (F, I), óxidos de nitrógeno, óxidos de carbono, óxidos de azufre, ozono y radicales libres, silicatos, iones en general, amoníaco, metales pesados: Mn, Co, Pb, Zn, Fe, Cd, Cr, As, Ni, Se, Hg, Be. Contaminantes atmosféricos: CO, SO₂, SO₃, NO₂, NO, hidrocarburos no saturados y aromáticos, CFH, clorofluorometanos, μ -partículas (Si, Be, As, Cr, Pb, asbesto, humos, etc.). Lluvia ácida, reacciones fotoquímicas y radicales libres, agentes oxidantes y ozono.

DETERMINACIÓN DEL PRINCIPAL METABOLITO DEL GLIFOSATO, ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO, EN
HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACIÓN

ANEXO 6

SAGPyA-SENASA en 2008 aprobó la resolución n° 507/08
<http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File3501-residuos.pdf>

Principio Activo Cosecha	Aptitud	Cultivos	LMR (mg /kg)	Post
glifosato / glifosato acido	(Herbicida)	arándano		0,2
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	algodón (semilla consumo)		6
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	almendra		0,1
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	batata		0,1
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	caña de azúcar (tallo fresco)		0,1
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	cereza		0,2
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	ciruela		0,2
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	damasco		0,2
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	durazno		0,2
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	cítricos en general		0,2
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	Forraje (seco)		50
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	maíz (forraje)		1
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	girasol (semilla consumo)		0,2
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	guinda		0,2
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	maíz dulce (grano consumo)		0,1
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	maíz (grano consumo)		1
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	maní (sin cáscara)		0,1
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	manzana		0,2
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	membrillo		0,2
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	palta		0,1
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	papa		0,1
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	pasturas consociadas (leg.y gram.)		20
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	pera		0,2
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	soja (forraje)		20
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	soja (grano consumo)		5
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	soja (grano no maduro)		0,2
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	sorgo (forraje)		20
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	té		0,5
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	trigo (grano consumo)		5
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	uva (de mesa)		0,2
glifosato / glifosato acido	(herbicida)	yerba mate		0,5
glufosinato de amonio	(desecante - herbicida)	alfalfa (forraje)		4,5
glufosinato de amonio	(desecante - herbicida)	durazno		0,05

DETERMINACIÓN DEL PRINCIPAL METABOLITO DEL GLIFOSATO, ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO, EN
HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACIÓN

ANEXO 7

Límites Máximos de Residuos glifosato

<u>Producto Básico</u>	<u>LMR</u>	<u>Año de adopción</u>	<u>Símbolos</u>	<u>Nota</u>
<u>La alfalfa forrajera</u>	500 mg / Kg	2006		
<u>Plátano</u>	0,05 mg / Kg	2006	(*)	
<u>La cebada paja y forraje seco de</u>	400 mg / Kg	2006		
<u>Grano de forraje</u>	200 mg / Kg	2006		
<u>Frijoles (secos)</u>	2 mg / Kg	2006		
<u>Granos de cereales</u>	30 mg / Kg	2006		Excepto el maíz y el arroz
<u>Semillas de algodón</u>	40 mg / Kg	2006		
<u>Despojos comestibles (mamíferos)</u>	5 mg / Kg	2006		Excepto los cerdos
<u>Huevos</u>	0,05 mg / Kg	2006	(*)	
<u>Heno o forraje (seco) de las gramíneas</u>	500 mg / Kg	2006		
<u>Maíz</u>	5 mg / Kg	2006		
<u>Forraje de maíz (seco)</u>	150 mg / Kg	2006		
<u>Carne (de mamíferos distintos de los mamíferos marinos)</u>	0,05 mg / Kg	2006	(*)	
<u>Leches</u>	0,05 mg / Kg	2006	(*)	
<u>Paja y forraje seco de</u>	100 mg / Kg	2006		
<u>Heno o forraje de guisante guisantes (seco)</u>	500 mg / Kg	2006		
<u>Guisantes (seco)</u>	5 mg / Kg	2006		

DETERMINACIÓN DEL PRINCIPAL METABOLITO DEL GLIFOSATO, ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO, EN
HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACIÓN

DETALLES DEL PRODUCTO BÁSICO
CF 1211 – Harina de trigo

Límites máximos de residuos para Harina de trigo

<u>Plaguicida</u>	<u>LMR</u>	<u>Año de adopción</u>	<u>Símbolos</u>	<u>Nota</u>
<u>Metomilo</u>	0,03 mg/Kg	2005		
<u>Imidacloprid</u>	0,03 mg/Kg	2004		
<u>Clorpirifos</u>	0,1 mg/Kg	2003		
<u>Floruro de sulfurilo</u>	0,1 mg/Kg	2006	Po	
<u>Carbarilo</u>	0,2 mg/Kg	2004		
<u>Fenvalerato</u>	0,2 mg/Kg		PoP	
<u>Malation</u>	0,2 mg/Kg	2006		
<u>Deltametrin</u>	0,3 mg/Kg	2004	PoP	
<u>Diquat</u>	0,5 mg/Kg	1999		
<u>Permetrin</u>	0,5 mg/Kg		PoP	
<u>Bioresmetrin</u>	1 mg/Kg	1995	PoP	
<u>Diclorvos</u>	1 mg/Kg	1997		
<u>Clormequat</u>	2 mg/Kg	2003		
<u>Piperonil Butóxido</u>	10 mg/Kg	2004	PoP	

Residuos de plaguicidas en los alimentos y piensos

DETALLES DEL PRODUCTO BÁSICO
CF 1212 – Harina integral de trigo

Límites máximos de residuos para Harina integral de trigo

<u>Plaguicida</u>	<u>LMR</u>	<u>Año de adopción</u>	<u>Símbolos</u>	<u>Nota</u>
<u>Floruro de sulfurilo</u>	0,1 mg/Kg	2006	Po	
<u>Bioresmetrin</u>	1 mg/Kg	1995	PoP	
<u>Diclorvos</u>	2 mg/Kg	1997		
<u>Diquat</u>	2 mg/Kg	1999		
<u>Permetrin</u>	2 mg/Kg		PoP	
<u>Deltametrin</u>	2 mg/Kg	2004	PoP	
<u>Fenvalerato</u>	2 mg/Kg		PoP	
<u>Clormequat</u>	5 mg/Kg	2003		
<u>Piperonil Butóxido</u>	30 mg/Kg	2004	PoP	
<u>Bromuro Inorganico</u>	50 mg/Kg			

DETERMINACIÓN DEL PRINCIPAL METABOLITO DEL GLIFOSATO, ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO, EN
HARINA DE TRIGO PARA PANIFICACIÓN

Información

Información relacionada con la JMPR

LD50 / IDTP 0-1 mg / kg de peso corporal 2011

Definición del residuo para el cumplimiento de los LMR para la soja y el maíz: suma de glifosato y N acetylglyphosate, expresada como glifosato. Definición del residuo para el cumplimiento de los LMR (para otros productos de origen vegetal): glifosato. Definición del residuo para el cumplimiento de los LMR (para los productos de origen animal): suma de glifosato y N acetylglyphosate, expresada como glifosato. Definición del residuo para la estimación de la ingestión dietética (para productos vegetales y animales): glifosato, N-acetylglyphosate, AMPA y N-acetil AMPA, expresada como glifosato. El residuo no es liposoluble

Residuos de plaguicidas en los alimentos y piensos

<http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/commodities/details.html?id=67&print=true>

σπ	<u>AB 1203</u>	<u>Harina de semillas de algodón</u>
σπ	<u>AB 1265</u>	<u>Harina de soja</u>
σπ	<u>CF 1211</u>	<u>Harina de trigo</u>
σπ	<u>CF 1212</u>	<u>Harina integral de trigo</u>
σπ	<u>CF 1250</u>	<u>Harina de centeno</u>
σπ	<u>CF 1251</u>	<u>Harina integral de centeno</u>
σπ	<u>CF 1255</u>	<u>Maíz, harina</u>
σπ	<u>CF 5273</u>	<u>Harina de maíz</u>

73358

(37)