

ANALISIS DE RESIDUOS ORGANOCLORADOS, ORGANOFOSFORADOS Y GLIFOSATO EN MIELES

Lataza Rovaletti M. M¹; Farco A²; Benítez, E I.^{1,2}

*1 QuiTEx-Facultad Regional Resistencia-UTN, French 414, Resistencia Chaco. E-mail:
mercedeslataza@gmail.com*

2 INQUIBA-NEA, Avenida Libertad 5460, Corrientes

Resumen: El consumo mundial anual de plaguicidas ha ascendido a $2,7 \times 10^6$ toneladas en los últimos años. En Argentina, la siembra directa (SD) es el manejo de suelo más empleado ocupando el 90 % de la superficie agrícola. Este modelo depende exclusivamente de la aplicación de herbicidas como única forma de control de malezas, siendo glifosato, 2,4D y atrazina los más utilizados. El uso de insumos químicos genera una sobrecarga en los suelos de nuestro país provocando la acumulación de estas moléculas en el ambiente. Un número cada vez mayor de estudios han demostrado que el glifosato tiene varios efectos subletales sobre el microbiota intestinal de las abejas melíferas, el comportamiento de búsqueda de alimento, los procesos de desarrollo y las vías antioxidantes. Existiendo una preocupación generalizada por la disminución de las abejas debido al uso inadecuado de pesticidas. Las regiones del NEA y NOA son vistas como nuevas oportunidades para el desplazamiento de las colmenas por el avance de la frontera agrícola en Argentina y la utilización de agroquímicos en cultivos extensivos compactan los espacios de utilización para el desarrollo de la apicultura. Se realizó un relevamiento durante los meses de Diciembre de 2021 a Febrero de 2022, de las mieles producidas en territorio Chaqueño, extrayendo un total de 56 muestras en 12 (doce) de los 25 departamentos de la Provincia. Se analizó la presencia de Glifosato y residuos Organoclorados y Organofosforados en las mismas. La determinación de Glifosato y su principal metabolito el ácido aminometilfosfónico (AMPA) se realizó mediante la técnica de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) de la empresa Abraxis®, mientras que los residuos organoclorados y organofosforados se analizaron utilizando Cromatografía gaseosa con detección de masas. Los resultados arrojaron presencia de Glifosato en mieles provenientes en mayor medida de los departamentos abundantes en sembradíos, no detectándose en aquellas mieles provenientes de zonas de territorio virgen o en mieles que poseen certificación Orgánica. El 64% de las muestras arrojó presencia de Glifosato, de las cuales el 31% supera los 50 ppb, límite establecido por la Commission Regulation -EU- N° 293/2013. En ninguna de las muestras analizadas hasta el momento se observó presencia de residuos organofosforados y organoclorados.

Palabras Clave: Miel, Glifosato, Plaguicidas.

1. Introducción

La miel es un producto natural de las abejas y es reconocida como un alimento con propiedades nutritivas con valiosas aplicaciones terapéuticas. La mayor parte es producida por abejas domesticadas (*Apis mellifera L.*) a partir del néctar de las flores o de las secreciones de azúcar de las hojas de esencia arbórea. La miel se compone principalmente de carbohidratos, proteínas, minerales, vitaminas y otras sustancias, pero su composición depende principalmente sobre el origen floral del néctar (Ball, 2007).

En el medio ambiente, las abejas recogen contaminantes a través de una amplia gama de vías: (i) por el consumo de polen y néctar contaminados, (ii) por contacto con plantas y suelo de cultivos en los que los agricultores aplican pesticidas (iii) por inhalación durante el vuelo y recolección, (iv) por ingestión de aguas superficiales contaminadas. Además, las abejas son también expuestas a pesticidas y antibióticos administrados por los apicultores para controlar algunas infestaciones como *Varroa destructor*, *Acarapis woodi* y *Paenibacillus larvae* (Rodríguez López et al., 2014)

Históricamente, la producción de cereales se concentró en la pampa, pero luego de la introducción de los cultivos transgénicos en 1996, se expandió rápidamente a zonas menos fértiles- no pampeanas (Cáceres et al., 2020).

La agricultura basada en semillas transgénicas (particularmente de soja) se ha expandido a áreas antes ocupadas por bosques nativos del Chaco y el glifosato se ha convertido en el principal agroquímico utilizado en Argentina (Cáceres et al., 2020). La pérdida de biodiversidad por la transformación de ecosistemas naturales en tierras destinadas a la agroindustria se considera uno de los principales impactos que han producido los cambios de uso de suelo (Hails, 2002, Sanvido et al., 2007).

En Argentina se estima un uso promedio de 5 kg i.a. glifosato ha⁻¹ y se ha probado que el suelo no es capaz de degradar completamente la molécula entre una aplicación y la siguiente, por lo que se lo ha propuesto como “pseudo-persistente”. La molécula de glifosato (N-fosfometil glicina), clasificada como probablemente carcinogénica (IARC, 2015), presente en un alimento como la miel puede ser atribuida a un uso excesivo de este plaguicida, que ha provocado su disipación ambiental. Esto, considerando rigurosa y responsablemente, que no se haya empleado en el apiario para el control de malezas o en la manipulación de la miel en el proceso productivo (errores y/ accidentes) (CONICET, 2018)

La exposición al glifosato suele ser subletal y no tiene efectos significativos en las abejas a corto plazo. Sin embargo, la acumulación y transferencia de esta biomasa

heterogénea en el panal tendrá efectos adversos en el desempeño de las abejas a largo plazo e incluso puede afectar la supervivencia de toda la colonia (Shuai Tan et al, 2021).

La Unión Europea establece como límite máximo permitido de glifosato en miel (no orgánica), jalea real y polen 0,05 mg/kg (Commission Regulation -EU- N° 293/2013 of 20 March 2013).

El glifosato y el AMPA son compuestos poco volátiles y altamente hidrófilos (Corbera 2007). Para su cuantificación se desarrolla un proceso de extracción, concentración y análisis de la muestra. El ensayo HPLC constituye uno de los métodos analíticos más difundidos para la determinación de glifosato y AMPA en agua, dado el carácter iónico que presentan estas sustancias (Nedelkoska y Low 2004). Sin embargo, la aplicación de esta técnica se ve limitada por sus elevados costos y por la necesidad de disponer de una adecuada infraestructura.

Actualmente, se ha desarrollado una técnica alternativa al HPLC para la determinación del plaguicida en agua, conocida como ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés) con el equipo Glyphosate Magnetic Particle Kit, Abraxis®. Esta técnica se fundamenta en la interacción del analito con un anticuerpo que es reconocido por su alta afinidad y especificidad. Se trata de un método simple, de bajo costo, rápido, sensible y selectivo. Además, no requiere de instrumentación sofisticada y permite analizar un elevado número de muestras en corto tiempo.

2. Materiales y Métodos

2.1 Muestras de Mieles

Se procedió a extraer 56 muestras de mieles multiflorales pertenecientes a 12 departamentos de la provincia del Chaco entre Diciembre de 2021 y Noviembre 2022. La ubicación geográfica de las mismas puede observarse en la **Fig 4**. Las mismas fueron tomadas directamente de los tambores con tapa desmontable, en salas fraccionadoras habilitadas. Cada tambor se encontraba identificado con los datos del apicultor así como el N° de lote y cosecha.

Las muestras se recolectaron en envases plásticos de primer uso, etiquetados y se mantuvieron resguardados de la luz en el laboratorio hasta su análisis. El tamaño de la muestra fue de 250g.

2.2 Análisis de Glifosato

La determinación de glifosato (N-fosfonometil glicina) y su principal metabolito el ácido aminometilfosfónico (AMPA) se realizó mediante la técnica de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) de la empresa Abraxis®

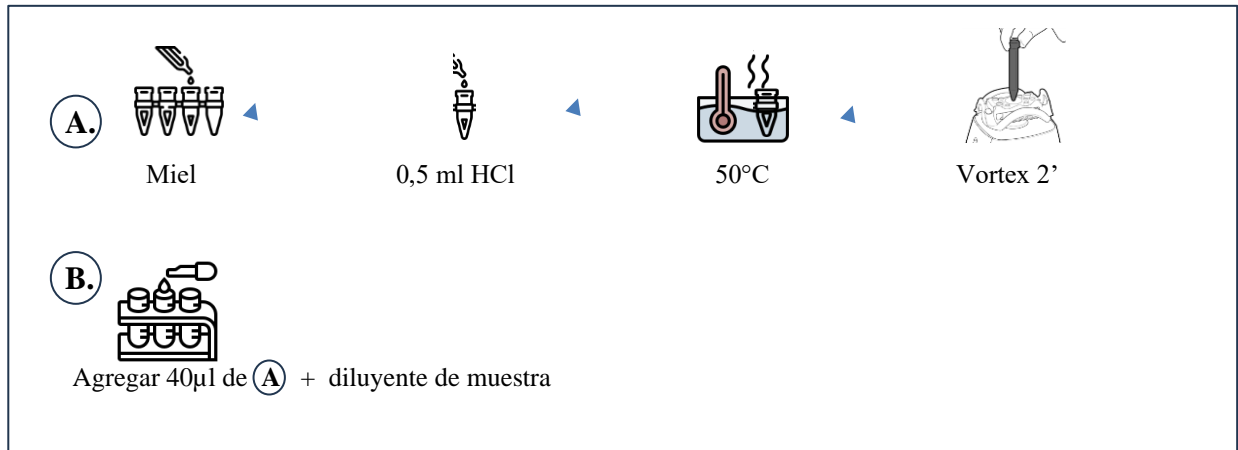


Fig. 1. Procedimiento de preparación de las muestras

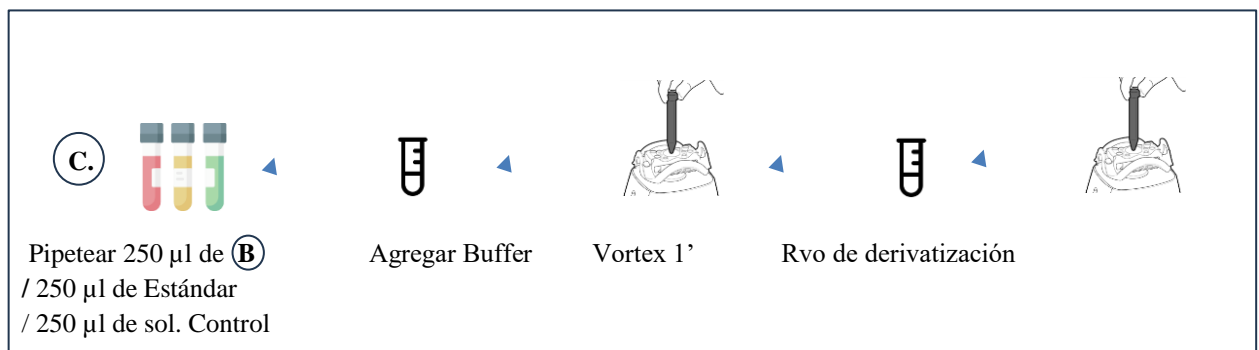


Fig. 2. Procedimiento de Derivatización de los Estándares, control y Muestras

El estándar, control y muestras están listos para ser analizados. Se Procedió al procedimiento de ensayo. Para la detección de Glifosato se utilizó un espectrofotómetro de multiplacas marca Thermo Fisher 51119500.

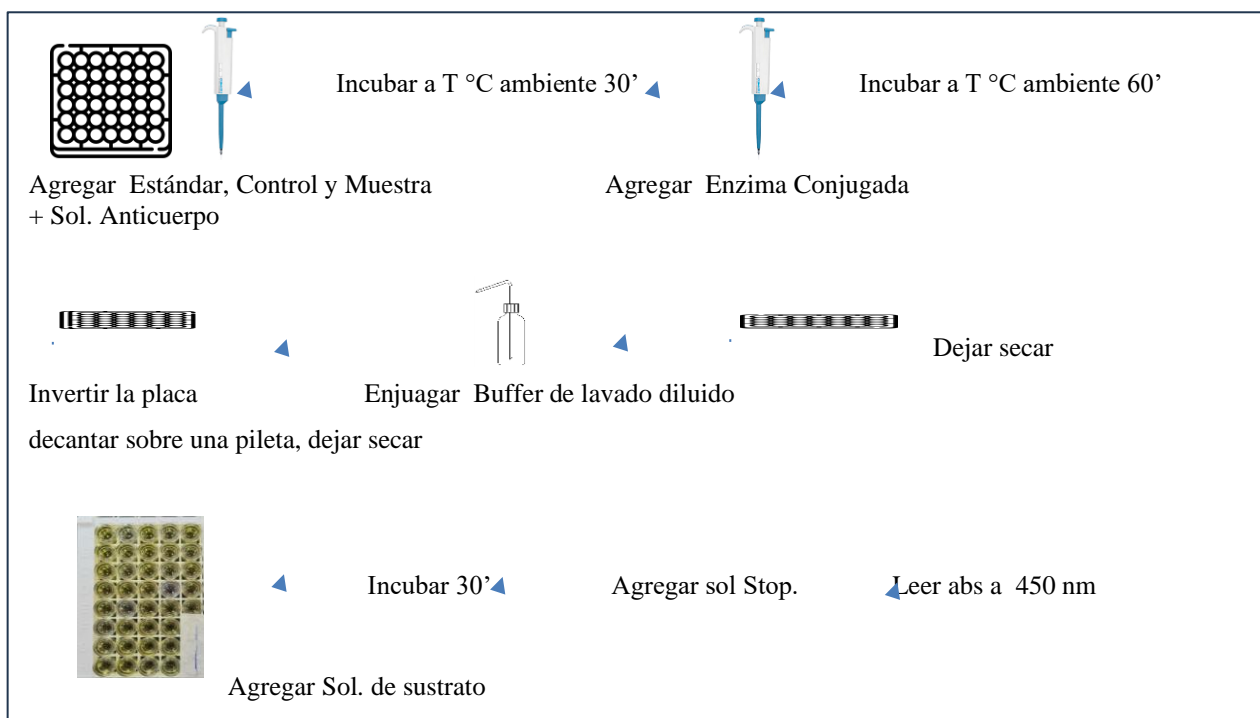


Fig 3. Procedimiento del final de ensayo

El color desarrollado (450 nm) es inversamente proporcional a la concentración de glifosato en dicha muestra.

Se calculó la regresión lineal para determinar la existencia de relación entre los valores de absorbancia y las concentraciones de glifosato en las muestras.

2.3. Análisis de Residuos Organoclorados y Organofosforados

Para el análisis de residuos organoclorados y organofosforados, se derivaron las muestras al laboratorio de Cromatografía del Departamento de Servicios Analíticos de Cuyo del INTI-Mendoza. La metodología empleada fue cromatografía gaseosa con detección de masas. Para la detección de residuos Organoclorados y Organofosforados se utilizó un cromatógrafo de gases con detección de masas.

3. Resultados y Discusión

3.1 Niveles de pesticidas en la miel

En la Tabla 1, se observa que el 36 % de las muestras analizadas posee una concentración < 50 ppb, límite establecido por la Unión Europea, el 34 % posee una concentración > 50 ppb y el 30 % No Detectable (ND) para Glifosato.

Respecto a los pesticidas organofosforados y organoclorados, no se detectó presencia en ninguna de las muestras estudiadas.

Tabla 1. Concentración detectada de Glifosato en 56 muestras de Miel

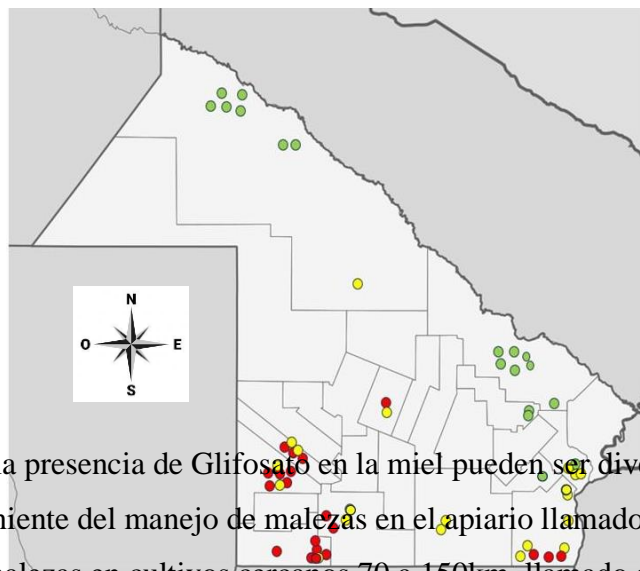
Muestras	Glifosato (ppb)	Localidad	Departamentos
1	< 50	Colonia Playa Ford	San Fernando
2	> 50	Paraje 34	San Fernando
3	< 50	Basail	San Fernando
4	> 50	Basail	San Fernando
5	< 50	Colonia las Mercedes	San Fernando
6	>50	Paralelo 28	San Fernando
7	< 50	Colonia Tacuarí	San Fernando
8	< 50	Resistencia	San Fernando
9	< 50	San Buenaventura del Monte Alto	San Fernando
10	< 50	Santa Silvina	Fray Justo Sta. Ma. De Oro
11	> 50	Santa Silvina	Fray Justo Sta. Ma. De Oro
12	> 50	Santa Silvina	Fray Justo Sta. Ma. De Oro
13	> 50	Santa Silvina	Fray Justo Sta. Ma. De Oro
14	> 50	Santa Silvina	Fray Justo Sta. Ma. De Oro
15	> 50	30 km de Silvina y 30 de Dugraty	Fray Justo Sta. Ma. De Oro
16	ND	Margarita Belén	1 de Mayo
17	< 50	Colonia Amadeo	1 de Mayo
18	< 50	Colonia Amadeo	1 de Mayo
19	< 50	Colonia Amadeo	1 de Mayo
20	ND	Makalle y Laguna Blanca	Libertad
21	ND	Colonia Mixta	Sargento Cabral
22	ND	Colonia Mixta	Sargento Cabral
23	< 50	Saenz Peña	Comandante Fernandez
24	> 50	Saenz Peña	Comandante Fernandez
25	> 50	Chorotis	Mayor Luis Jorge Fontana
26	> 50	Juan José Paso	Mayor Luis Jorge Fontana
27	< 50	Coronel Dugrati	Mayor Luis Jorge Fontana
28	< 50	Villa Angela	Mayor Luis Jorge Fontana
29	ND	Villa Angela	Mayor Luis Jorge Fontana
30	< 50	Charaday	Tapenagá
31	< 50	Charaday	Tapenagá
32	> 50	Charata	Chacabuco
33	> 50	Charata	Chacabuco
34	< 50	Charata	Chacabuco
35	> 50	Charata	Chacabuco
36	< 50	Charata	Chacabuco
37	< 50	General Pinedo	12 de Octubre
38	> 50	General Pinedo	12 de Octubre
39	> 50	General Pinedo	12 de Octubre

40	< 50	General Pinedo	12 de Octubre
41	> 50	General Pinedo	12 de Octubre
42	> 50	General Pinedo	12 de Octubre
43	> 50	General Pinedo	12 de Octubre
44	ND	Sausalito	Gral Guemes
45	ND	Sausalito	Gral Guemes
46	ND	Sausalito	Gral Guemes
47	ND	Sausalito	Gral Guemes
48	ND	Sausalito	Gral Guemes
49	< 50	Castelli	Gral Guemes
50	ND	San Martín	Libertador Gral San Martin
51	ND	San Martín	Libertador Gral San Martin
52	ND	San Martín	Libertador Gral San Martin
53	ND	San Martín	Libertador Gral San Martin
54	ND	San Martín	Libertador Gral San Martin
55	ND	San Martín	Libertador Gral San Martin
56	ND	La Eduvigis	Libertador Gral San Martin

Es importante destacar que aquellas muestras de miel certificadas como Orgánicas no se ha detectado presencia de pesticidas.

En la Fig 4, puede verse la distribución de las muestras de miel con la clasificación por color de acuerdo al contenido de Glifosato hallado. En la zona Norte y Este de la Provincia, se observa ausencia de Glifosato en las muestras analizadas, mientras que en la zona Sur y Oeste es donde se encontró mayor preponderancia además de los valores más altos, algunos superando mas de 8 veces el valor permitido por la UE.

Fig 4 Clasificación del contenido de Glifosato de las muestras: color Verde: No se detecta, Amarillo: < 50 ppb , Rojo: >50 ppb



Las causas de la presencia de Glifosato en la miel pueden ser diversas: Contaminación proveniente del manejo de malezas en el apiario llamado efecto dilución. Manejo de malezas en cultivos cercanos 70 a 150km, llamado efecto deriva o

debido a un efecto de acumulación, donde se suman varios factores como ser: agua de río, suelos y agua de lluvia contaminada (RSA CONICET, 2018).

Los suelos de la provincia son de relieve llano, con dos regiones bien diferenciadas; una oriental de zonas húmedas y terrenos bajos, y otra occidental con suelos salitrosos y vegetación adaptada a medios secos. El Sur de la provincia, está representado por los Bajos Submeridionales, de rápida inundación y, por otro lado, el Norte y Oeste, se caracteriza por el bosque “El Impenetrable” que ocupa gran parte del territorio.

Los suelos más aptos para agricultura intensiva y continuada son los de Clase III y II, ubicados en los departamentos de: San Fernando, Donovan, 1 de Mayo, Sargento Cabral, Centro-Oeste de Libertador General San Martín, O'Higgins, Fray Justo Santa María y Mayor Luis J. Fontana (Plan de Gestión Integrada de Riesgos Agropecuarios de la Provincia del Chaco, 2019)

Las zonas o departamentos donde se detecto mayor presencia de Glifosato en Miel, coinciden en gran medida con los suelos catalogados como mas fértiles de la Provincia, utilizados para la agricultura intensiva. Mientras que los Bosques del Impenetrable coinciden con las muestras donde no se detectó el pesticida.

El glifosato es un herbicida ampliamente utilizado en todo el mundo. Aunque su objetivo

son las plantas y microorganismos, ejerce una serie de efectos letales o efectos subletales en las abejas benéficas, lo que afecta gravemente a su valor natural como insecto polinizador y su valor económico para el ser humano. Además, las formulaciones de glifosato se consideran potencialmente más tóxico para las abejas debido a su contenido de adyuvante(Tan et al., 2022)

Es importante tener en cuenta que el glifosato no siempre causa muerte inmediata de la abeja pero afecta adversamente el desempeño de la misma o da como resultado una disminución de la vitalidad y la productividad de la colmena, lo que plantea un desafío para la salud de toda la colonia a largo plazo (Devillers et al., 2002; Farina et al., 2019).

4. Conclusiones

La técnica de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) ha sido aplicada con éxito en las 56 muestras analizadas, mostrando ser un método alternativo, rápido para la detección de Glifosato en dicha matriz.

La detección de Glifosato en el 63% de las muestras analizadas, implica seguir investigando las causas raíz de la presencia de dicho pesticida en el Alimento, ya que podría provocar pérdidas económicas al sector exportador .

5. Agradecimientos

Los autores de este trabajo agradecen al laboratorio de Cromatografía del Departamento de Servicios Analíticos de Cuyo del INTI-Mendoza, por su colaboración.

6. Referencias

- Ball, D. W. (2007). The chemical composition of honey. *Journal of Chemical Education*, 84, 1643e1646.
- Cáceres, Daniel M. & Tapella, Esteban & Cabrol, Diego & Estigarribia, Lucrecia. (2020). Land Use Change and Commodity Frontiers: Perceptions, Values, and Conflicts Over the Appropriation of Nature. *Case Studies in the Environment*. 4. 1-15.
- Corbera M. (2007). *Desenvolupament de metodologia analítica per a la determinació de glifosat i adjuvants*. Tesis Doctoral, Universitat de Girona. Departamento de Química, Unitat de Química Analítica, Girona, España, 208 pp.
- Devillers, J., Pham-Delegue, M., Decourtye, A., Budzinski, H., Cluzeau, S., Maurin, G., 2002. Structure-toxicity modeling of pesticides to honey bees. *SAR QSAR Environ. Res.* 13 (7–8), 641–648.
- Farina, W.M., Balbuena, M.S., Herbert, L.T., Mengoni Goñalons, C., V´azquez, D.E., 2019. Effects of the herbicide glyphosate on honey bee sensory and cognitive abilities: individual impairments with implications for the hive. *Insects* 10 (10). <https://doi.org/10.3390/insects10100354>.
- Hails, R.S., (2002). Assessing the risks associated with new agricultural practices. *Nature* 418, 685–688.
- Nedelkoska T. V. y Low G. K. (2004). High performance liquid chromatography determination of glyphosate in water and plant material after pre-column derivatisation with 9-fluorenylmethyl chloropormate. *Anal. Chim. Acta.* 511, 145-153.
- Plan de Gestión Integrada de Riesgos Agropecuarios de la Provincia del Chaco, (2019)
- Red de seguridad Alimentaria (RSA) del CONICET (2018). Informe Glifosato en miel. ISSN 2618-2785.
- Cáceres, D. M., Tapella, E., Cabrol, D. A., & Estigarribia, L. (2020). Land use change and commodity frontiers: Perceptions, values, and conflicts over the appropriation of nature. *Case Studies in the Environment*, 4(1). <https://doi.org/10.1525/cse.2020.1223610>
- Rodríguez López, D., Ahumada, D. A., Díaz, A. C., & Guerrero, J. A. (2014). Evaluation of pesticide residues in honey from different geographic regions of Colombia. *Food Control*, 37(1), 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.011>
- Tan, S., Li, G., Liu, Z., Wang, H., Guo, X., & Xu, B. (2022). Effects of glyphosate exposure on honeybees. In *Environmental Toxicology and Pharmacology* (Vol. 90). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103792>

- Sanvido, O., Romeis, J., Bigler, F., (2007). Ecological impacts of genetically modified crops: ten years of field research and commercial cultivation. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 107, 235–278.
- Shuai Tan, Guilin Li, Zhenguo Liu, Hongfang Wang, Xingqi Guo, Baohua Xu (2021). Effects of glyphosate exposure on honeybees, *Environmental Toxicology and Pharmacology*. Volume 90, 103792. ISSN 13826689. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103792>.