DETERMINACIÓN DE GLIFOSATO POR UPLC

ELABORADO POR	VERIFICADO POR	APROBADO POR
Nombre y Apellido: Lic. Carmen Lugo Lic. Claudia Montiel Lic. Leyla Diaz	**Nombre y Apellido:** Lic. Olga Pavón	**Nombre y Apellido:** Ing. Agr. Carmen Berni
Cargo: Técnica Analista Jefa de Departamento	**Cargo:** Directora de Laboratorios	**Cargo:** Directora General Técnica
Firma: **Fecha:** 01/10/2026	**Firma:** **Fecha:** 02/10/2026	**Firma:** Carmen Berni Ing. Agr. Reg. COSAVE PY-078 **Fecha:** 05/10/2026

1. OBJETIVO

Describir los pasos para la identificación y cuantificación del ingrediente activo glifosato en productos formulados y grado técnico.

2. ALCANCE

Este método aplica al ensayo de la identificación y cuantificación del ingrediente activo glifosato en productos fitosanitarios formulados y grado técnico, realizado en el Laboratorio de Control de Calidad de Productos Fitosanitarios.

3. DOCUMENTO DE REFERENCIA

CIPAC Handboook Volumen H. Análisis y técnicas de formulaciones de pesticidas. Edición 1998.

4. SIGLAS

4.1. CH_3OH: Metanol

4.2. DLQ: Departamento de Laboratorios Químicos

4.3. DRS: Desviación relativa estándar

4.4. KH_2PO_4: Fosfato de potasio dibásico

4.5. LCCPF: Laboratorio de Control de Calidad en Productos Fitosanitarios

4.6. µL: microlitos.

5. RESPONSABLES

El jefe del DLQ es responsable de asegurar la implementación y el cumplimiento del presente documento. El personal técnico es responsable de ejecutar el ensayo de acuerdo con las instrucciones establecidas y de registrar los resultados obtenidos.

6. ACTIVIDADES

6.1. Equipos:

a. UPLC Waters
b. Balanza analítica
c. Baño sonicador
d. Bomba de vacío
e. PHmetro
f. Densímetro

6.2. Materiales:

a. Matraces de 100mL.
b. Viales de 2mL.
c. Espátula.
d. Kitasato de 1000mL.
e. Parafilm.
f. Columna SAX 150 x 4.6mm, 5 µ.
g. Membrana de celulosa 0,22 µm x 25mm.
h. Membrana de celulosa 0,45 µm x 47 mm.

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

Msc. Leyla Sofía Díaz
Lic. Química - R.P.N° 497
Ing. Agrónoma- R.P.N° 8.544

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Carmen Berni
Ing. Agr.
Reg. COSAVE PY-078

Ing. Agr. Claudia E. Montiel C.
Mat. Profesional N° 4962
mecip 2015

Lic. Claudia Montiel
SENAVE

i. Papel indicador de pH.

6.3. Reactivos:

a. Agua desionizada.

b. Estándar primario: Glifosato.

c. Fosfato de potasio dibásico

d. Metanol grado HPLC

e. Material de Referencia Certificado

6.4. Desarrollo del Ensayo

6.4.1. Determinación de la densidad de la muestra:

Para la determinación de densidad se utiliza el picnómetro y el valor obtenido se registra en el FOR-DLQ-016 Protocolo de Trabajo LCCPF, para lo cual se utiliza la fórmula:

$$\text{Densidad} = \frac{(\text{PicMuestra} - \text{Picvacio})}{(\text{PicH2O} - \text{Picvacio})}$$

Donde:

Pic Muestra: peso del picnómetro con la muestra

Picvacío: peso del picnómetro vacío

Pic H2O: peso del picnómetro con agua

6.4.2. Preparación de la fase móvil:

Pesar 0,8437g de KH_2PO_4 y disolver con 960mL de agua desionizada y luego agregar 40 mL de Metanol grado HPLC, ajustar el pH a 1,93 el uso del equipo se registra en el FOR-DLQ-016 Protocolo de Trabajo LCCPF. Filtrar con filtro de Celulosa de 0,45 µm de porosidad y colocarla en la bomba D del equipo UPLC.

6.4.3. Preparación de la solución estandar:

Pesar exactamente alrededor de 200 mg con una precisión de ±1 mg del estándar de Glifosato en un matraz de 100 mL y registrar en el FOR-DLQ-053 Planilla de pesos de muestras analizadas, agregar agua hasta ¾ parte del volumen y luego colocar en el Sonicador por espacio de 15 min.

Dejar reposar para llegar a temperatura ambiente y enrasar a volumen con agua para obtener una concentración de 2mg/mL. Filtrar con filtro celulosa de 0,22 µm y colocar en un vial. Realizar los cálculos de concentración en mg/ml. Inyectar en el UPLC.

6.4.4. Preparación de la solución de la muestra:

Pesar y procesar la muestra de manera similar a la indicada para el estándar, teniendo en cuenta que la concentración final de Glifosato en la misma debe ser de aproximadamente 2 mg/mL. Registrar en el FOR-DLQ-053 Planilla de pesos de muestras analizadas.

Para determinar la cantidad de muestra a pesar se utiliza la fórmula:

$$\text{Peso Muestra} = \frac{\text{Conc std} / 1000}{\% \text{ mta} / 100}$$

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

Msc. Leyla Sofía Díaz
Lic. Química - R.P.N° 497
Ing. Agrónoma- R.P.N° 8.544

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Carmen Berni
Ing. Agr.
Reg. COSAVE PY-078

Ing. Agr. Claudia E. Montiel C.
Mat. Profesional N° 8362
Lic. Claudia Montiel
SENAVE

mecip 2015

Donde:

Conc std: concentración del estándar

% mta: porcentaje del principio activo en la muestra

6.5. Condiciones Cromatográficas:

a. Columna: SAX 150 x 4.6mm, 5 µ.

b. Fase Móvil: Sol. Buffer:CH_3OH (960:40).

c. Tiempo de acondicionamiento (estabilización): aproximadamente 30 min.

d. Flujo: 0,8 mL/min.

e. Volumen de inyección: 50 µL.

f. Detector UV: 195nm.

g. Tiempo de retención: entre 3,2 min a 3,8 min aproximadamente.

h. Esquema de inyección: Tanto las soluciones estándar como de las muestras se inyectan por duplicado de manera a obtener una DRS menor a 2%.

i. Temperatura de columna: 30 °C.

j. pH de la Fase móvil: entre 1,90 a 1,96.

6.6. Cálculos:

$$\text{Contenido de Glifosato } (\%p/p) = \frac{Ar_{Mu} \times M_{St} \times P_{St}}{M_{Mu} \times Ar_{St}}$$

$$\text{Contenido de Glifosato } (\%p/v) = \frac{Ar_{Mu} \times M_{St} \times P_{St}}{M_{Mu} \times Ar_{St}} \times D_m$$

A_{mta}: Promedio de las áreas de los picos de Glifosato en la muestra.
A_{St} : Promedio de las áreas de los picos de Glifosato en el estándar.
P_{St}: Pureza del estándar expresada en %p/p.
M_{St}: Masa de estándar en miligramos.
M_{mta}: Masa de muestra en miligramos.
D_m: Densidad de la muestra

f: Factor de conversión:
Glifosato acido sal isopropilamina: 1,3496
Glifosato acido sal de amonio: 1,1008
Glifosato acido sal potásica: 1,2250
Glifosato acido sal de sodio: 1,1308
Glifosato acido sal Dimetilamina: 1,2665

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

Lic. Claudia Montiel
SENAVE

Carmen Berni
Ing. Agr.
Reg. COSAVE PY-078

Msc. Leyla Sofía Díaz
Lic. Química (R.P.N° 497
Ing. Agrónoma- R.P.N° 8.544

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Ing. Agr. Claudia E. Montiel C.
Mat. Prof. [illegible] 8362

mecip 2015

Notas:

a) Antes de iniciar los ensayos se verifica que las temperaturas de la sala de procesamiento de muestras y sala de cromatografía, sean las adecuadas, se estableció un rango de temperatura de trabajo de 10ºC - 30ºC y de humedad de 30%-80%. Los registros de estos controles se realizan en el FOR-DL-009 Control diario de Temperatura y humedad.
b) Para colocar la columna debe tenerse en cuenta la dirección del flujo de la fase móvil, la cual se encuentra indicada en la etiqueta de la columna.
c) La presión de las bombas no debe exceder de 15000Psi.
d) Las columnas utilizadas siempre deben ser lavadas al término de cada ensayo con Metanol: Agua (90:10) por espacio aproximado de ½ hora.
e) Se realiza verificación intermedia del estado del equipo mediante la inyección de un material de referencia certificado o estándar primario con columna específica e identificada para tal efecto. La misma se registra en el FOR-DLQ-033 Planilla de verificación de equipos cromatográficos.
f) Las áreas de las soluciones estándar y muestra, así como las desviaciones estándar relativa de las mismas se registran en el FOR-DL-032 Análisis de Reproducibilidad/Repetibilidad Analítica, como Control de Calidad Interno rutinario, se marca la casilla correspondiente a Repetibilidad.

7. CONTROL DE CAMBIOS

Ítem	Página	Cambios
---	---	---

8. DOCUMENTOS

Nombre del documento	Código	Área de archivo	Responsable	Tiempo de retención por dependencia	Disposición final
Protocolo de Trabajo LCCPF	FOR-DLQ-016	LCCPF	Jefe y Técnicos	5 años	Digitalización
Informe de resultado LCCPF	FOR-DLQ-018	LCCPF	Jefe y Técnico	5 años	Digitalización
Análisis de Reproducibilidad/Repetibilidad Analítica	FOR-DLQ-032	LCCPF	Jefe y Técnico	5 años	Digitalización
Control diario de temperatura y humedad	FOR-DL-009	LCCPF	Jefe y Técnico	5 años	Digitalización
Planilla de verificación de equipos cromatográficos	FOR-DLQ-033	LCCPF	Jefe y Técnico	5 años	Digitalización

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

Msc. Leyla Sofía Díaz
Lic. Química R.P.N° 497
Ing. Agrónoma- R.P.N° 8.544

Carmen Berni
Ing. Agr.
Reg. COSAVE PY-078

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Ing. Agr. Claudia Monte
Mat. Profesional N° 8362
Lic. Claudia Monte
SENAVE

mecip 2015

9. APROBACIÓN DEL DOCUMENTO

APROBACIÓN POR LA DGT	
Nombre y Apellido	Carmen Berni Ing. Agr. Reg. COSAVE PY-078
Fecha	05/10/16
Vigencia	El presente documento será de aplicación a partir del día hábil siguiente a la fecha de su aprobación.

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

Carmen Berni
Ing. Agr.
Reg. COSAVE PY-078

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Leyla Sofía Díaz
Lic. Química - R.P.N° 497
Agrónoma- R.P.N° 8.544

Ing. Agr. Claudia E. Montiel C.
Mat. Profesional Nº 8362

Lic. Claudia Montiel
SENAVE

mecip 2015