

# DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE GLIFOSATO Y DE SU METABOLITO ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO EN AGUAS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA CON DERIVACIÓN POSCOLUMNA Y DETECCIÓN POR FLUORESCENCIA

Hugo A. Rodríguez, Jairo Guerrero\*, René Castro\*\*

Recibido: 09/03/02 Aceptado: 18/11/02

**Palabras clave:** herbicida, derivación poscolumna, metabolito, validación, extracción y concentración, glifosato

**Key words:** herbicide, postcolumn derivatization, metabolite, validation, extraction and concentration, glyphosate.

## RESUMEN

El glifosato es un herbicida no selectivo, ampliamente utilizado en el mundo para controlar malezas anuales y perennes. Su principal metabolito en suelos y aguas es el ácido aminometilfosfónico (AMPA) formado por la acción de microorganismos.

Este herbicida se utiliza en Colombia en altas dosis para la erradicación de cultivos ilícitos de coca y amapola, y como madurante en caña de azúcar, constituyendo un problema ambiental y social en el país, y haciéndose necesaria la evaluación de residuos de glifosato y su metabolito en diferentes matrices.

En este trabajo se validó una metodología analítica para determinar residuos de glifosato y de su metabolito AMPA en aguas de influencia de algunas regiones colombianas. El procedimiento experimental comprende dos pasos principales: el primero es un paso de limpieza, extracción y concentración en fase sólida; el segundo corresponde a la separación, identificación y cuantificación de los compuestos mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (CLAE) con derivación poscolumna y detección por fluorescencia.

Los resultados de la validación muestran que la metodología es específica, selectiva, precisa y robusta en un rango lineal entre 10 y 750  $\mu\text{g/L}$ , con límites de detección de 0,8  $\mu\text{g/L}$  y límites de cuantificación de 2  $\mu\text{g/L}$  para los dos analitos. Las recuperaciones se encuentran en el orden del 73% para glifosato y del 70% para el AMPA.

Además, se muestran los resultados de análisis de aguas tomadas en algunas zonas del país donde se aplica glifosato en

\* Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, E-mail: jairo709@ciencias.unal.edu.co

\*\* Laboratorio Nacional de Insumos Agrícolas (Lania), Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).

diferentes dosis con diferentes propósitos, encontrándose residuos del herbicida y de su metabolito en concentraciones por encima de los valores permitidos en aguas potables para plaguicidas de categoría toxicológica IV, caso del glifosato, de acuerdo con la legislación colombiana.

## ABSTRACT

The glyphosate is a no selective herbicide largely used in the world in order to control annual and perennial weeds. Its principal metabolite in soils and waters is the aminomethyl-phosphonic acid (AMPA) formed by microorganism's action.

This herbicide is used in Colombia in high doses to illegal crops eradication of coca and amapola and like natural accelerator in sugar cane, constituting an environmental and social problem for the country, being necessary the evaluation of glyphosate residues in different matrices.

This study describes the validation of the analytical methodology for the simultaneous determination of glyphosate and its metabolite AMPA in waters of some colombian regions. The experimental procedure pointed out two main steps: the first one was a cleaning, extraction and concentration step by solid phase extraction; the second step is the separation, identification and quantification of the compounds by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with post-column derivatization and fluorescence detection.

The results of the validation show that the methodology is specific, selective, precise and robust with linear calibration

curve in the linear range between 10 and 750  $\mu\text{g/L}$ , with limits of detection of 0.8  $\mu\text{g/L}$  and limits of quantification of 2  $\mu\text{g/L}$  for the two analytes. The recoveries are in the order of 73% for glyphosate and 70% for AMPA.

More over analysis results are presented for water samples of some country regions where glyphosate is applied in different doses with different purposes, finding residues of the herbicide and its metabolite in concentrations above the allowed values in drinking waters for pesticides of toxicology category IV, like the glyphosate, according with the colombian legislation.

## INTRODUCCIÓN

El hombre ha desarrollado la agricultura como una de sus principales fuentes alimentarias, y dado que la población aumenta día a día, se han tenido que implementar modelos de producción agrícola de alto rendimiento para suplir con buena calidad y suficiente cantidad el mercado mundial. En estos modelos agrícolas el uso de plaguicidas es una herramienta eficaz para controlar enfermedades, insectos, malezas y otras plagas que además pueden afectar cultivos y cosechas. En Colombia, el uso de estos agroquímicos hace parte del modelo de desarrollo agrícola (1).

Un grupo importante de agroquímicos encargados del control de malezas son los herbicidas, entre los cuales el glifosato es uno de los más utilizados en el mundo. En nuestro país se utiliza en cultivos de arroz, algodón, cacao y banano entre otros; también es usado como madurante en caña de azúcar y tiene una aplicación

muy importante en la erradicación de cultivos ilícitos de coca y amapola (1).

El empleo de los plaguicidas ha mostrado grandes beneficios sobre la producción agrícola, sin embargo sus efectos negativos sobre la salud y el medio ambiente están llamando la atención del mundo entero debido a su uso inadecuado (1).

De acuerdo con este panorama se ha visto la necesidad de evaluar cuantitativamente residuos de glifosato y de su principal metabolito, el ácido aminometilfosfónico (AMPA), en matrices biológicas, productos de cosecha, suelos y aguas en distintos ecosistemas. Se han propuesto diversos métodos analíticos para la evaluación de estos compuestos utilizando técnicas cromatográficas selectivas y sensibles, acompañadas de procesos de extracción, limpieza y concentración que facilitan su determinación y cuantificación al nivel de trazas.

En Colombia no se han realizado estudios para determinar el impacto de este herbicida sobre el medio ambiente y la salud humana; la información científica disponible sobre estudios realizados en otros países no es extrapolable, en su mayoría, a las condiciones de amplia diversidad climática y étnica de nuestro país. Además, no se han establecido programas de seguimiento ambiental ni programas de evaluación de residuos en aguas o productos agrícolas de consumo humano, más aún teniendo en cuenta la problemática existente en el país por el uso de grandes cantidades de glifosato para la erradicación de cultivos ilícitos, convirtiéndose en un problema ambiental, social y económico para Colombia y para el mundo entero.

En este trabajo se estandarizó y validó una metodología para determinar residuos de glifosato y AMPA en aguas de influencia de algunas regiones colombianas. La validación garantiza la idoneidad y veracidad de los resultados emanados de los análisis, además demuestra que la metodología para la evaluación de concentraciones de interés toxicológico es adecuada, convirtiéndose para el país en una herramienta técnica confiable, sensible y específica en la evaluación de residuos de glifosato en aguas, permitiendo desarrollar estudios para el monitoreo y seguimiento de este herbicida.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Toma de las muestras de campo.** Se analizaron dos grupos de muestras tomadas en diferentes zonas del país: una suministrada por la División de Antinarcóticos de la Policía Nacional de Colombia y otra tomada por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) en conjunto con la empresa Monsanto Colombiana en la región norte del departamento del Cauca.

El tipo de muestreo empleado fue aleatorio estratificado (2). Las muestras fueron compuestas por submuestras representativas de todo el cuerpo de agua. Se eligieron como puntos estratégicos de muestreo aquellos que el recolector consideró críticos por una posible presencia del compuesto de interés (glifosato). Las muestras fueron recolectadas en botellas de vidrio de color ámbar, de un litro de capacidad, y transportadas al laboratorio en neveras de icopor con hielo seco.

**Análisis de muestras.** Al hacer la recepción de las muestras se les ajustó el pH entre 3 y 4 para disminuir la actividad mi-

crobiana y así evitar la descomposición del glifosato (3); se examinaron sus propiedades organolépticas tales como el color (turbidez) y el olor, y se almacenaron en refrigeración. Como resultado del estudio de estabilidad de las muestras éstas se pueden almacenar hasta un mes con el fin de preservar las estabilidad de los analitos. En el momento de su análisis se sacó la muestra del refrigerador, se dejó ambientar, se agitó manualmente y se tomaron 200 mL, ajustando su pH a 6,0. De este volumen se tomaron 50 mL a los cuales se les hizo la extracción y el análisis cromatográfico. Este proceso se realizó por triplicado.

**Metodología.** La metodología analítica empleada se llevó a cabo con base en métodos reportados en literatura y consta de dos etapas principales (3-6):

**1. Proceso de limpieza, extracción y concentración de las muestras.** Como se observa en la figura 1, cada una de las muestras de agua analizadas se pasó a través de un cartucho de Lichrolut EN con el

fin de retirar materia orgánica presente. 50 mL de este filtrado se pasaron luego a través de un cartucho de resina de intercambio aniónico en forma  $\text{OH}^-$  para retener los compuestos de interés mediante extracción en fase sólida y posteriormente eluirlos con 10 mL de solución de citrato de sodio 0,4 M, concentrando cinco veces la muestra.

**2. Proceso de separación, identificación y cuantificación.** Una vez se hizo la extracción y concentración de los analitos de interés, se procedió a su separación e identificación mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia con derivación poscolumna y detección por fluorescencia (3-5). El esquema del sistema cromatográfico se muestra en la figura 2.

**Instrumentación.** Se utilizó un cromatógrafo modular Shimadzu SCL-6B con unidad de derivación poscolumna Pickering PCX 5100, detector de fluorescencia Shimadzu RF-535 (excitación = 330 nm y emisión = 465 nm), estación de procesos Shimadzu C-R4A Chromatopac con registra-

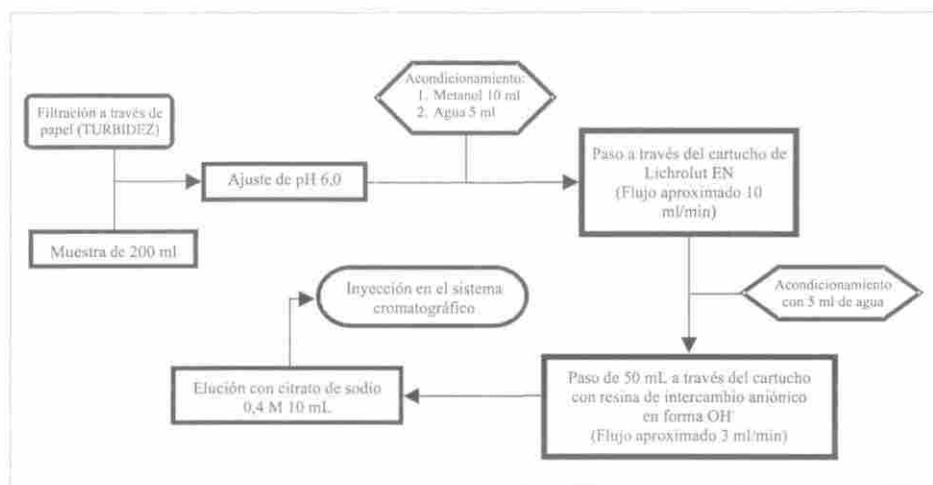


Figura 1. Proceso de limpieza, extracción y concentración de las muestras.

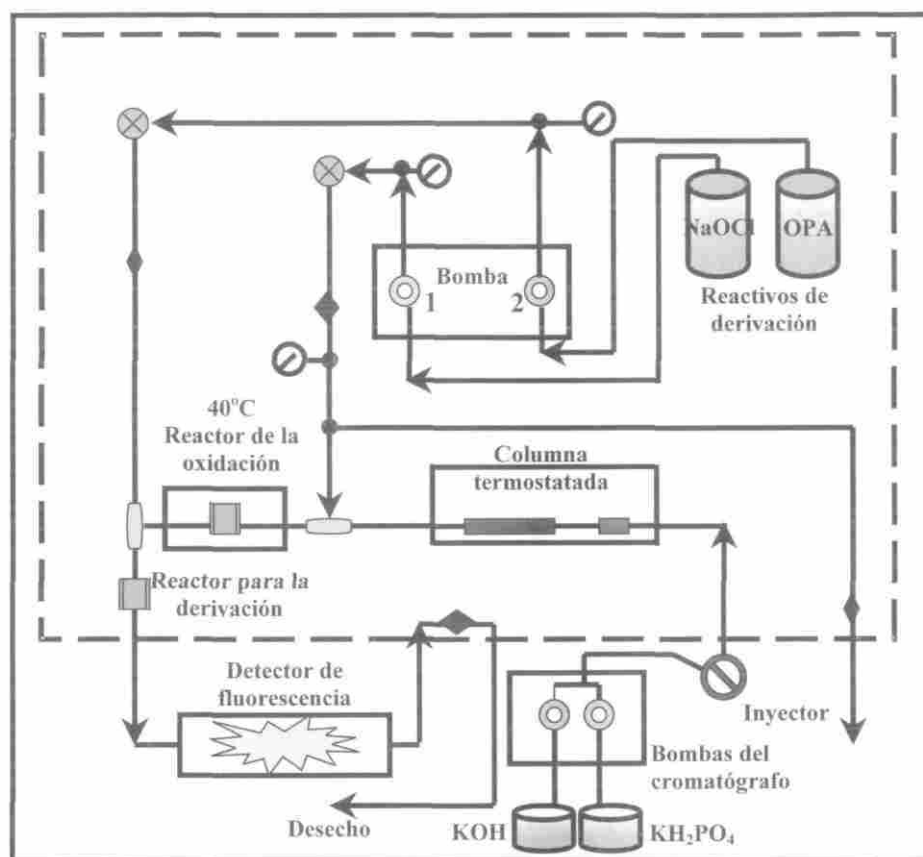


Figura 2. Sistema cromatográfico.

dor, software C-R4A Chromatopac system Versión 2.8, sistema deionizador de agua E&Q/Autostill/Freshman-4/Millipore.

**Reactivos.** Se utilizó agua desmineralizada y deionizada filtrada y desgasificada a través de membrana HV de 0,45  $\mu\text{m}$  y 47 mm de diámetro, citrato de sodio dihidratado (reactivo puro Carlo Erba), hipoclorito de sodio (NaOCl solución 7%  $\pm$  2% reactivo puro Carlo Erba), ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$  cristales grado germicida U.S.P. Mallinckrodt®), ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$  para análisis J.T. Baker, pureza

85%), hidróxido de potasio (KOH en lentes para análisis, Merck, pureza mínima 86%), fosfato diácido de potasio anhidro ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Suprapur® Merck, pureza 99,995%), metanol solvente (HPLC J.T. Baker, pureza 100%), cloruro de sodio (NaCl grado analítico ACS, ISO, Merck), hidróxido de sodio (NaOH anhidro en lentes RPE-ACS, pureza 98%), ortoformaldehído OPA para análisis por fluorimetría Merck, tiofluor™ grado cromatográfico Pickering Laboratories y estándares certificados de glifosato del 99% de pureza suministrado por Agrosor (Lote

**Tabla 1.** Programa de elución usado para la separación e identificación de glifosato y AMPA

Etapa	Tiempo (min)	% Fase móvil	% Regenerante
1	0-15	100	0
2	15-17	0	100
3	17-34	100	0

No. 211-26A) y de AMPA del 99,1% de pureza suministrado por Monsanto S.A. (Lote No. PIT-8912-1385-A).

**Condiciones cromatográficas.** Se empleó una columna Pickering de intercambio catiónico forma  $K^+$  (150x4mm d.i., 8  $\mu$ m) con una precolumna de intercambio catiónico forma  $K^+$  a una temperatura de 55°C. El volumen de inyección fue de 50  $\mu$ L, la fase móvil usada fue una solución tampón de  $KH_2PO_4$  5 mM ajustada a pH 2,0 con ácido fosfórico a un flujo de 0,4 mL/min y una solución regenerante de KOH 5 mM al mismo flujo, usando un gradiente por etapas que se muestra en la tabla 1.

**Condiciones de derivación.** Las condiciones de la derivación poscolumna se muestran en la tabla 2.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Separación cromatográfica.** Se escogieron aquellas condiciones que proporcionaban una separación adecuada (resolución > 1,5) obteniéndose tiempos de retención de 9 min y 19 min para glifosato y AMPA respectivamente. La figura 3 muestra un cromatograma típico de la separación de los dos analitos.

**Derivación.** Se escogieron aquellas condiciones que proporcionaban los mayores valores de respuesta para los dos analitos, teniendo en cuenta los factores críticos de la derivación los cuales influyen notoriamente sobre la sensibilidad cromatográfica de los compuestos. Estos factores son el volumen de hipoclorito de

**Tabla 2.** Condiciones de la derivación poscolumna

Parámetro	Descripción
<i>Temperatura del reactor de oxidación</i>	40°C
Solución oxidativa	
$KH_2PO_4$	0,36 g/L
NaCl	11,6 g/L
NaOH	0,4 g/L
NaOCl 7%	100 $\mu$ L/L
<i>Solución para formar los derivados</i>	
$H_3BO_3$	30 g/L
KOH	0,1 g/L
OPA	2 g/L
Tiofluor	pH de la solución 10,4
Flujo de reactivos	0,3 mL/min

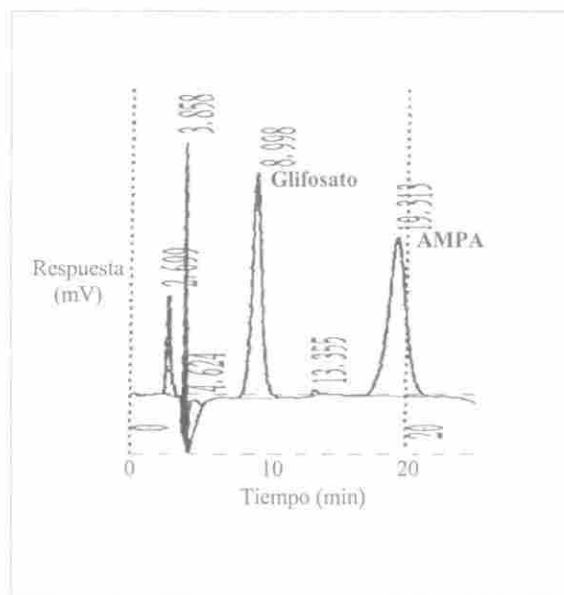


Figura 3. Cromatograma típico de glifosato y de su metabolito ácido aminometilfosfónico.

sodio de la solución oxidativa, la temperatura del reactor de oxidación, y el pH y la fuerza iónica de la solución tampón de derivación. Para estos parámetros se seleccionaron los valores de 100  $\mu$ L de hipoclorito de sodio, 40°C de temperatura para el reactor de oxidación, pH=10,4 y 30 g de ácido bórico e hidróxido de potasio de la solución tampón.

**Proceso de extracción.** Al evaluar el proceso de extracción a través de la resina de intercambio aniónico en forma OH<sup>-</sup> se encontraron las mejores condiciones de trabajo usando 50 mL de muestra a un pH de 6,0 en concentraciones de los analitos hasta de 2,6 mg/L.

**Validación de la metodología.** Una vez se establecieron las condiciones adecuadas de separación cromatográfica y de extracción, se validaron los parámetros de especificidad-selectividad, precisión,

linealidad, cantidad mínima detectable, cantidad mínima cuantificable, exactitud y robustez (7-10).

#### *Especificidad-selectividad.*

Se inyectaron soluciones de matriz blanco a las cuales se les aplicó la metodología, sin encontrar señales que interfirieran con los tiempos de retención de los compuestos. A partir de los análisis para la optimización de la separación cromatográfica se evidenció la selectividad del método puesto que la separación entre las señales encontradas en los cromatogramas fue adecuada; resolución mayor de 1,5.

La especificidad del método también se aprecia dadas las características de la separación cromatográfica catiónica, la reacción de oxidación a pH controlado, la reacción de derivación única para aminas primarias –como es el caso de los analitos en cuestión– y el tipo de detección por fluorescencia a longitudes de onda específicas.

**Precisión.** Se evaluó como repetibilidad (en el mismo día) y como reproducibilidad (en diferentes días) en concentraciones dentro del rango de las curvas de calibración, expresando los resultados como coeficientes de variación para determinar la dispersión de los datos. Los coeficientes de variación hallados, tanto para el sistema como para el método, se resumen en las tablas 3 y 4.

Puede observarse cómo la precisión es mayor para el sistema que para el método tanto en el estudio de repetibilidad como en el de reproducibilidad; hecho evidente

**Tabla 3.** Resultados de precisión expresada como repetibilidad

	GLIFOSATO		AMPA	
	Conc. ( $\mu\text{g/L}$ )*	CV (n=5)**	Conc. ( $\mu\text{g/L}$ )*	CV (n=5)**
SISTEMA	10	14,7	10	8,3
	26	2,7	24	9,7
	52	7,6	48	4,9
	103	2,8	97	2,3
	258	2,0	242	0,6
	774	4,1	726	0,9
MÉTODO	Conc. ( $\mu\text{g/L}$ )*	CV (n=3)**	Conc. ( $\mu\text{g/L}$ )*	CV (n=3)**
	10	20,1	10	18,6
	103	14,4	97	25,4
	774	21,5	726	19,0

\* Con.: Concentración. \*\* C.V.: Coeficiente de variación.

dado que en el método se involucran los procedimientos de limpieza, extracción y concentración de las muestras. También se observa que la reproducibilidad es mayor para el glifosato que para su metabolito, mientras que la repetibilidad no muestra una tendencia clara en este sentido. Los valores relativamente altos de dispersión se deben a que las concentraciones a las cuales se trabajó son del orden de los  $\mu\text{g/L}$ . Un perfil de precisión muy notorio se observa en la tabla 3 para glifosato donde la dispersión es muchísimo mayor a concentraciones bajas.

**Linealidad.** Se evaluó la linealidad del sistema cromatográfico y de la metodología (en extracto de matriz) mediante el empleo de curvas de calibración en un intervalo de concentraciones entre 10 y 774

$\mu\text{g/L}$  para glifosato y entre 10 y 726  $\mu\text{g/L}$  para AMPA, con seis niveles de concentración para cada analito. En las tablas 3 y 4 aparecen las concentraciones de cada nivel. Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Para evaluar la regresión y la linealidad se utilizó un análisis de varianza Anova, y para evaluar el coeficiente de correlación, el intercepto y la pendiente de la recta se aplicó la prueba *t student* con un nivel de confianza del 95%.

Se encontró que para los dos analitos las curvas de calibración presentan regresión, linealidad, pendientes estadísticamente diferentes de cero y convergencia al origen tanto para las curvas del sistema como para las realizadas en extracto de matriz.

Se evaluó el efecto de la matriz mediante la gráfica obtenida de respuestas en extracto de matriz contra respuestas del sistema (11). Se realizaron las pruebas de regresión y linealidad así como la evaluación del intercepto, pendiente y coeficiente de correlación con un nivel de confianza del 95%. No se encontró estadísticamente efecto de la matriz por lo cual la cuantificación de muestras se llevó a cabo mediante las curvas de calibración evaluadas para el sistema cromatográfico.

**Cantidad mínima detectable.** Se utilizó el método de diluciones seriadas (12), realizando diluciones desde una so-



**Tabla 4.** Resultados de precisión expresada como repetibilidad

	GLIFOSATO		AMPA	
	Conc. ( $\mu\text{g/L}$ )*	CV (n=5)**	Conc. ( $\mu\text{g/L}$ )*	CV (n=5)**
SISTEMA	10	14,2	10	20,8
	26	13,8	24	17,8
	52	13,3	48	10,9
	103	12,1	97	14,3
	258	15,7	242	12,0
	774	7,7	726	12,5
	MÉTODO	Conc. ( $\mu\text{g/L}$ )*	CV (n=3)**	Conc. ( $\mu\text{g/L}$ )*
10		14,5	10	17,4
103		13,6	97	18,3
774		12,7	726	20,4

\* Con.: Concentración. \*\* C.V.: Coeficiente de variación.

lución equivalente a la concentración del primer nivel de calibración (10  $\mu\text{g/L}$  para los dos analitos) hasta una solución cuya dilución posterior no produjera una señal detectable por el sistema cromatográfico. Se encontró una cantidad mínima detectable de 4  $\mu\text{g/L}$  para los dos analitos. Concentraciones por debajo de este valor no pueden considerarse como una señal cromatográfica. Dado que la metodología permite concentrar las muestras cinco veces, el límite de detección estimado en las muestras de agua es del orden de 0,8  $\mu\text{g/L}$ .

**Cantidad mínima cuantificable.** Se seleccionó el primer nivel de concentración de las curvas de calibración como la mínima cantidad cuantificable para el sistema, dado que esta concentración puede

expresarse con un grado de precisión y exactitud (9, 10). Teniendo en cuenta que la metodología permite concentrar las muestras cinco veces, el límite de cuantificación de la metodología es 2  $\mu\text{g/L}$ . Concentraciones por debajo de este valor no son exactas ni precisas.

**Exactitud.** Este parámetro fue evaluado como el porcentaje de recuperación a tres niveles de concentración dentro del rango de la curva de calibración. El proceso se realizó por triplicado. Los porcentajes de recuperación encontrados fueron 75,9%, 64,5% y 79,7% para glifosato en orden creciente de concentración y 89,8%, 52,9% y 66,4%

para el AMPA. Se aplicó la prueba estadística G de Cochran para determinar la influencia de las concentraciones sobre la variación en los porcentajes de recuperación encontrándose la influencia de la concentración sobre este parámetro de validación, por lo cual no se puede expresar un porcentaje de recuperación global para cada analito. Se aplicó también la prueba *t de student* para establecer si los porcentajes de recuperación obtenidos fueron significativamente diferentes de 100%, encontrándose que para la concentración de 100  $\mu\text{g/L}$  el porcentaje de recuperación encontrado sí es diferente del 100%; por tanto, es necesario corregir las muestras que se encuentren en concentraciones cercanas a ésta.

**Tabla 5.** Diseño experimental utilizado para la evaluación de la robustez

Parámetro	Factor estandarizado	Factor bajo	Factor alto
$\lambda$ excitación	330 nm	325 nm	335 nm
$\lambda$ emisión	465 nm	460 nm	470 nm
Tiempo de elución	0 horas	15 horas	15 horas
Volumen de elución	10 mL	8 mL	12 mL
pH de la fase móvil	2,0	1,8	2,2
Temperatura de la columna	55°C	50°C	60°C
Concentración del eluyente	0,40 M	0,35 M	0,45 M

**Robustez.** Para evaluar este parámetro se utilizó el diseño de Plackett y Burman (7) utilizando siete variables con dos factores alternativos mostrados en la tabla 5. La variable tiempo de elución, que es el tiempo transcurrido desde el momento que se retienen los compuestos en el cartucho con resina de intercambio aniónico hasta el momento en que se eluyen con citrato de sodio, permaneció igual tanto para el nivel bajo como para el nivel alto.

Este estudio se realizó a una concentración de 100  $\mu\text{g/L}$  para cada analito. Como factores críticos para el glifosato se encontraron el volumen de elución y la temperatura de la columna, mientras que para el AMPA fueron críticos la longitud de onda de emisión y la temperatura de la columna. Todos estos factores pueden controlarse debidamente utilizando equipos calibrados y con mantenimiento periódico. Controlando estos factores que pueden producir variabilidad en los resultados, puede decirse que la metodología es robusta.

**Análisis de muestras.** Se analizaron muestras suministradas por la Policía Nacional a través de la División de Antinarcóticos y muestras tomadas por el Institu-

to Colombiano Agropecuario y la empresa Monsanto Colombiana, en zonas del departamento del Cauca.

Los resultados de los análisis de las muestras aparecen consignados en la tabla 6.

Algunas de las muestras se inyectaron directamente en el sistema cromatográfico sin aplicarles el proceso de limpieza, extracción y concentración.

En la mayoría de las muestras analizadas se encontró glifosato y AMPA a excepción de la muestra Antinarcóticos No. 1 donde se detectó glifosato pero no se detectó su metabolito. Se observa cómo al inyectar directamente las muestras de Caloto no se encontró evidencia de la presencia de los analitos, pero al aplicar la metodología que concentra y extrae sí se determinaron los dos compuestos. Este hecho destaca la habilidad del método para concentrar los analitos de tal manera que concentraciones que puedan encontrarse al nivel de trazas en muestras, pueden ser detectadas, identificadas y cuantificadas con un alto grado de confiabilidad.

**Tabla 6.** Resultados del análisis de muestras

Procedencia	Glifosato Concentración ( $\mu\text{g/L}$ )	AMPA Concentración ( $\mu\text{g/L}$ )
Antinarcóticos No. 1	4,1 <sup>c</sup>	ND <sup>a</sup>
Antinarcóticos No. 2	2,5E+05 <sup>c</sup>	3,6E+03 <sup>c</sup>
Puerto Tejada	14E+01 <sup>c</sup>	62 <sup>c</sup>
Caloto	ND <sup>b</sup>	ND <sup>b</sup>
Vereda El Guayabal	14 <sup>c</sup>	0,9 <sup>c</sup>
Caloto	ND <sup>b</sup>	ND <sup>b</sup>
Ingenio La Cabaña	2,2 <sup>c</sup>	4,6 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>ND = No se detectó. <sup>b</sup>Inyección directa. <sup>c</sup>Inyección después de aplicada la metodología.

Las concentraciones halladas en las muestras Antinarcóticos No. 2, Puerto Tejada y Caloto vereda El Guayabal sobrepasan el límite máximo de residuos para plaguicidas de categoría toxicológica IV (caso del glifosato) en aguas potables ( $10 \mu\text{g/L}$ ) (13) y se encuentran por encima de la cantidad mínima cuantificable de la metodología ( $2 \mu\text{g/L}$ ).

El trabajo desarrollado siguió los requisitos establecidos en el Programa de Calidad implementado en el Laboratorio Nacional de Insumos Agrícolas (Lania) del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), basado en la guía ISO 17025.

## CONCLUSIONES

La metodología desarrollada cumple con los parámetros de validación descritos demostrando su idoneidad y confiabilidad para identificar y cuantificar glifosato y su metabolito ácido aminometilfosfónico al nivel de residuos en concentraciones de interés toxicológico. También evidencia su potencial aplicación

para la rastreabilidad de glifosato y su metabolito en aguas de posible consumo de animales y seres humanos, en regiones del país donde es usado con diferentes fines y en diferentes dosis.

La metodología validada ofrece al país una herramienta analítica que facilita los estudios de impacto ambiental por el uso del herbicida glifosato, en las diferentes aplicaciones en las que se recomienda su uso.

## AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros agradecimientos al Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) por la colaboración para la realización de este trabajo y por la financiación del mismo, al Departamento de Química de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, por la colaboración para la realización de este trabajo, y a la División de Antinarcóticos de la Policía Nacional de Colombia y a la empresa Monsanto Colombiana por la toma y el suministro de las muestras analizadas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Calderón, C.; Barriga, M. (1992). Introducción, Los plaguicidas. Desarrollo, salud y ambiente. En: Los plaguicidas en América Latina. Memorias del Seminario-Taller internacional sobre la problemática de los plaguicidas en la región de las Américas. Santafé de Bogotá. Arq. Ltda. Diseñadores gráficos. pp. 13-16.
2. Suárez, F. (1999). Fundamentos de estadística aplicada al sector agropecuario. Rojas Ederhard editores. Colombia.
3. Mallat, E.; Barceló, D. (1998). Analysis and degradation study of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in natural waters by means of polymeric and ion-exchange solid-phase extraction columns followed by ion chromatography-post-column derivatization with fluorescence detection. *J. Chromatogr. A*. **823** 129-136.
4. Environmental Protection Agency, EPA Método 547 (1990). Determination of glyphosate in drinking water by directaqueous-injection HPLC, post-column derivatization and fluorescence detection. USA.
5. Pickering Laboratories (1995). PCX5100 Post-column derivatization instrument for carbamate and glyphosate determination, User's manual.
6. Friestad, H.; Brønstad, J. (1985). Improved polarographic method for determination of glyphosate herbicide in crops, soil and water. *J. Assoc. off. Anal. Chem.* **68** (1) 76-79.
7. Quattrocchi, O.; Abelaira de Andrizzi, S.; Laba, R. (1992). Introducción a la HPLC: aplicación práctica. Editorial Artes Gráficas Farro. Buenos Aires. pp. 154-173, 301-328.
8. Hearn, G.M. (1992). A guide to validation in HPLC. Perkin Elmer Corp.: Londres.
9. Ospina de Nigrinis, L.S. (1994). El método de análisis para los estudios de estabilidad y de biodisponibilidad de medicamentos. Parte I. *Revista colombiana de ciencias químicofarmacéuticas*. **22** 7-12.
10. Ospina de Nigrinis, L.S. (1995). El método de análisis para los estudios de estabilidad y de biodisponibilidad de medicamentos. Parte II. *Revista colombiana de ciencias químicofarmacéuticas*. **23** 95-100.
11. Soboleva, E.; Mageto, A.; Ambrus, A. How to deal with "matriz-induced" chromatographic effect in trace analysis of pesticides?. International Atomic Energy Agency. FAO/IAEA, Austria. Artículo en preparación.
12. International Conference on Harmonization (1996). Guideline on validation of analytical procedures: Methodology. Food and Drug Administration.
13. Ministerio de Salud (1998). Decreto No. 475. Normativa del agua potable, artículo 13, capítulo III.