



## USO DEL UPLC WATERS

**Código:** ITR-LCC-127  
**Emisor:** DGT-DL-DLQ-LCC  
**Versión:** 01  
**Vigente:** 03/04/2023  
**Página:** 1 de 9

# USO DEL UPLC WATERS

<b>MODIFICADO POR</b>	<b>VERIFICADO POR</b>	<b>APROBADO POR</b>
<b>Nombre y Apellido:</b> Lic. Jessica Samaniego Lic. Alba Domínguez	<b>Nombre y Apellido:</b> Dra. Ing. Agr. Jadiyi Torales	<b>Nombre y Apellido:</b> Ing. Agr. César Rivas
<b>Cargo:</b> Técnica Analista Jefa interina del DLQ	<b>Cargo:</b> Directora de la DL	<b>Cargo:</b> Director General Técnico
<b>Firma:</b>	<b>Firma:</b>	<b>Firma:</b>
<b>Fecha:</b> 22/03/2023	<b>Fecha:</b> 24/03/2023	<b>Fecha:</b> 03/04/2023



## USO DEL UPLC WATERS

**Código:** ITR-LCC-127  
**Emisor:** DGT-DL-DLQ-LCC  
**Versión:** 01  
**Vigente:** 03/04/2023  
**Página:** 2 de 9

### 1. OBJETIVO

Describir el modo de operación y verificación del Cromatógrafo Líquido de Ultra Alta Performance (UPLC) con Detector de Arreglo de Diodos.

### 2. ALCANCE

Se aplica a los equipos marca Waters, modelo ACQUITY H CLASS con Códigos N°: LC.UPLC.01, LC.UPLC.02 y LC.UPLC.03

### 3. SIGLAS Y DEFINICIONES

#### 3.1 SIGLAS

- 3.1.2. **ITR** : Instructivo de trabajo
- 3.1.3. **DLQ** : Dirección de Laboratorios Químicos
- 3.1.4. **LCC** : Laboratorio de Control de Calidad de Insumos de Uso Agrícola.

#### 3.2 Definiciones.

**3.2.1. Instructivo (ITR):** son los documentos que describen las actividades paso a paso que se realizan en una etapa de un proceso y son complementarias a los procedimientos.

**3.2.2. Formularios (FOR):** son documentos con formato (físico o digital) preestablecido donde se registrarán los datos resultantes de una actividad.

**3.2.3. Calificación:** proceso total de aseguramiento de que un instrumento es apropiado para el uso propuesto y que su funcionamiento está de acuerdo a las especificaciones establecidas por el usuario y el proveedor.

### 4. RESPONSABILIDAD

Es responsabilidad del Encargado del LCC, del Responsable de la Unidad de Mantenimiento de Equipos de Laboratorio y de los técnicos analistas que operan el equipo, verificar el adecuado cumplimiento de este instructivo.

### 5. ACTIVIDADES

#### 5.1. Encendido del Sistema UPLC

El modo de encendido se aplica antes de cada uso y se realiza como se detalla a continuación:

- 5.1.1. Encender todos los módulos del equipo con la perilla "ON".
- 5.1.2. Encender la computadora, esperar que en la pantalla aparezca el icono del programa "Empower", luego escribir el nombre del usuario en "USER IDENTIFICATION" y por último escribir el "PASSWORD" correspondiente.
- 5.1.3. Cambiar el contenido de las botellas de fases móviles, líquidos de lavado y purga, etiquetar

5.1.4. Colocar la columna adecuada dentro del porta columnas de acuerdo a la metodología a realizar o a desarrollar.

## 5.2. Crear Proyecto:

5.2.1. En el menú principal, hacer clic en **Configure System**.

5.2.2. En la siguiente ventana que aparece, ir hasta FILE → NEW PROJEC.

5.2.3. Luego en la siguiente ventana tildar (✓) la opción PHOTO DIODE ARRAY SIGUIENTE →

5.2.4. Para la primera condición de esta ventana, **Always Acces**, tildar (✓) la opción OWNER, GROUP AND WORLD, en la segunda condición de la misma ventana, **Always Acces to Groups** tildar (✓) la opción ADMINISTRADOR SIGUIENTE. →

5.2.5. En esta siguiente ventana, en FROM PROJEC, desplegar las opciones y elegir un proyecto, para sobre escribir en la misma SIGUIENTE →

5.2.6. Nuevamente aparece una ventana como muestra la Figura 1 donde se da nombre al proyecto y en el espacio destinado para los comentarios, se detalla el análisis a realizar FINALIZAR. →

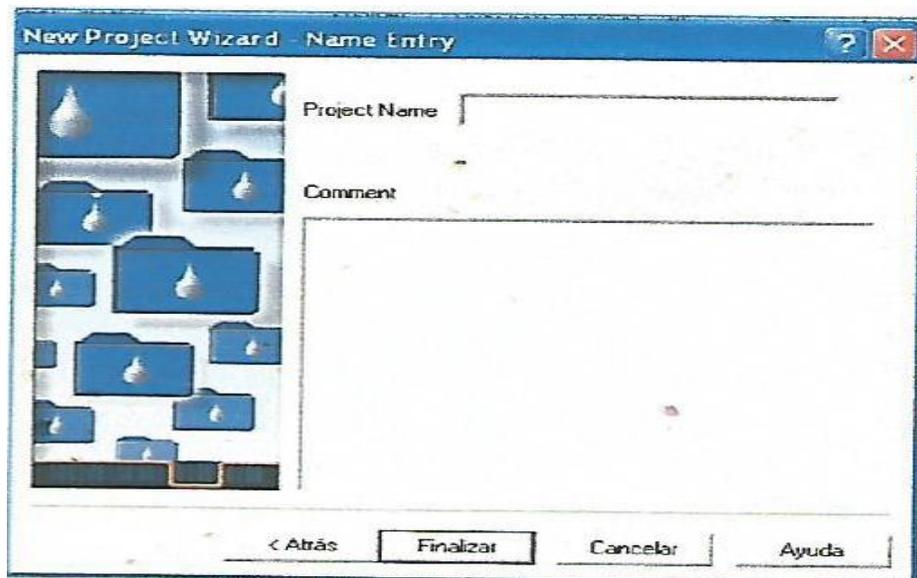


FIGURA 1

## 5.3. Crear un Método a partir de un Proyecto creado

5.3.1. Desde el menú principal, hacer clic en **Run samples**, posterior a esto aparece la lista de proyectos seleccionar el nombre de proyecto creado según el punto 4.3 Ok. →

5.3.2. En la ventana emergente, ir hasta EDIT OPEN → METODO SET, seleccionar el método NUEVO o GENERAL OPEN. →

5.3.3. Aparece una ventana como muestra en la Figura 2, en la opción INSTRUMENT METHOD EDIT. →

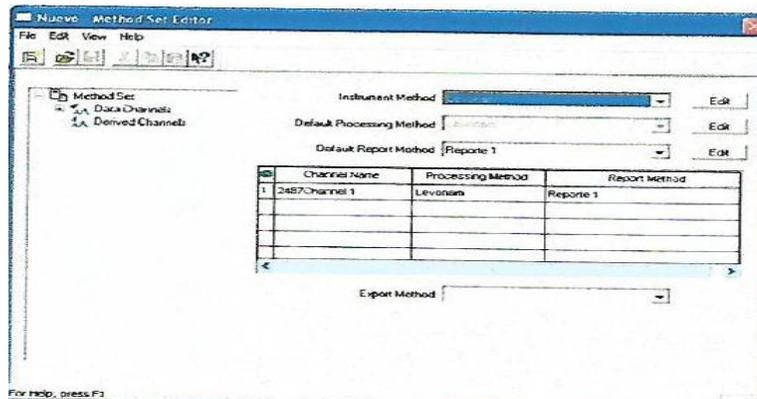


FIGURA 2

5.3.4. Hacer clic en el ícono que representa al inyector automático, termostato de columna, de esta forma, se establece la temperatura, los límites de presión en la pestaña de Temperatura, el flujo, en la pestaña correspondiente al flujo, y se condiciona al equipo a trabajar de forma isocrática o gradiente según la necesidad de trabajo. **Figura 3**

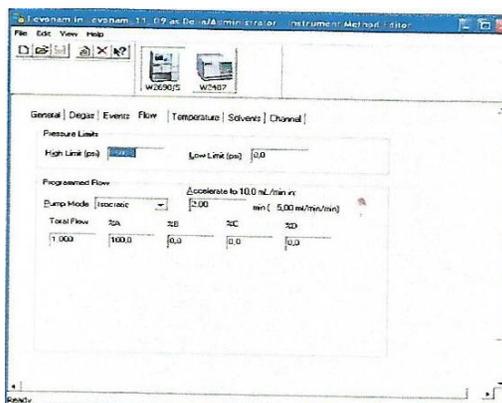


Figura 3

5.3.5 Sin salir de la ventana, hacer clic en el ícono que representa al detector, se establece la longitud de onda de trabajo. **Figura 4**

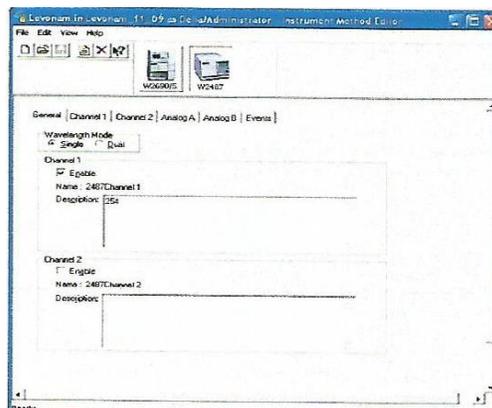


Figura 4

5.3.6. Una vez finalizado los pasos anteriores. Se guarda el método. FILE → SAVE AS → nombrar el proyecto nuevo. FILE → EXIT.

5.3.7. Sin salir de la ventana (Figura 2) en la opción DEFAULT PROCESSING METHOD EDIT. →

5.3.8. En este punto, se completa en la pantalla de integración con el ancho y altura del pico deseado, entre otras opciones como Inhibir Peak, Force Peak. Etc. Según la conveniencia. Figura 5



Figura 5

5.3.9. En la pestaña **Componentes**, nombrar el pico, y establecer el tiempo de retención del pico. Figura 6



Figura 6

5.3.10. Una vez finalizado los pasos anteriores se guarda el método. FILE SAVE → AS Nombrar el proyecto nuevo. FILE EXIT. →

5.3.11. Para habilitar el cuadro de selección de método en la segunda opción se debe suprimir la primera fila del cuadro mostrado más debajo de la ventana en cuestión, en la primera columna (**Channel Name**) se establece la Detección o en canal de detección a trabajar para el método creado, en la segunda columna (**Processing Method**), completar con el nombre del método creado (Figura 2).

5.3.12. Finalizado este paso seleccionar en **Default Processing Method** seleccionar el tipo de reporte deseado, normalmente utilizado el **Reporte 1**.

5.3.13. Una vez finalizado los pasos anteriores se guarda el método. FILE SAVE → AS Nombrar el proyecto nuevo. FILE EXIT. →

#### 5.4. Creación de una secuencia

5.4.1. Antes de comenzar la creación de la secuencia, verificar que el sistema se encuentre listo, seleccionar en **Instrument Method (A)**, el método deseado con los parámetros analíticos previamente cargados, y dar clic en **Setup**.

- Nota 1: Antes del **Setup**, en el panel del Equipo, según muestra la Figura 7 más abajo con la misma secuencia, en la opción Direct Funtion, se desplegará una pequeña ventana, seleccionar Wet Prime, establecer el tiempo y el flujo para la eliminación de posibles burbujas presentes en el canal de los solventes.



Figura 7.1



Figura 7.2



Figura 7.3

5.4.2. Verificar si el sistema está en condiciones, observando que en la esquina inferior derecha de la ventana principal aparezca el siguiente mensaje: **System Idle (B)**.

5.4.3. Luego seleccionar **Run and Report (C)**,

5.4.4. Seleccionar el panel **Samples (D)** planilla correspondiente a la muestra, para completar con los datos de la muestra a inyectar.

5.4.5. Clic en la primera columna **Vial (E)** del panel, colocar el número de vial correspondiente.

5.4.6. Clic en la siguiente columna la que corresponde a **Sample Name (F)**, completar con el nombre de la muestra a inyectar.

5.4.7. En la siguiente columna **Injection Vol (G)**, completar el volumen de inyección de trabajo en  $\mu\text{L}$ .

5.4.8. En la columna de **#of inj (H)**, completar con la cantidad de inyecciones a realizar por cada muestra.

Clic en la columna **Funtion (I)**, desplegar las opciones y seleccionar, en caso de ser una referencia o estándar. Inject Reference o Inject Standards, y para una muestra, Inject Sample.

5.4.9. Click en la columna **Method Set/Report Method (J)**: desplegar las opciones y seleccionar el método (NUEVO O GENERAL).

5.4.10. En la siguiente columna **Run Time (K)**, hacer click y completar con el tiempo de corrida en minutos a trabajar.

5.4.11. En la columna, nombrada como **Columna\_Número (L)** respectivamente, completar con las características de la columna. Ej: C-18.

5.4.12. En la última columna, **Fase Móvil (M)**, completar con el nombre de la fase móvil a utilizar, si es solicitado, de lo contrario no es necesario.

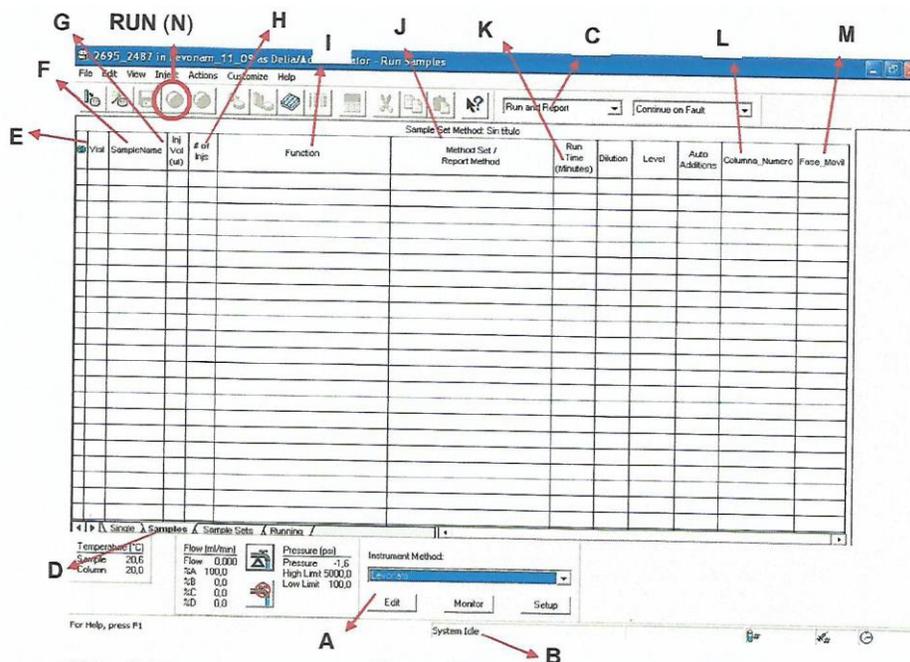


Figura 8

- Nota 2: Los otros campos que no están seleccionados, NO deben ser llenados.

5.4.13. Una vez que todos los datos fueron cargados en el Panel de **Sample Set Method**. Hacer clic en Run (N)  aparece una ventana como la Figura 8, se completa el campo de **Name for this sample set** con el nombre del análisis a realizar, más abajo se establece la impresora, luego se despliega las opciones de **Shutdown Method**, y se selecciona el método **RUN** en la ventana y se da comienzo a la secuencia de inyecciones. Figura 9.

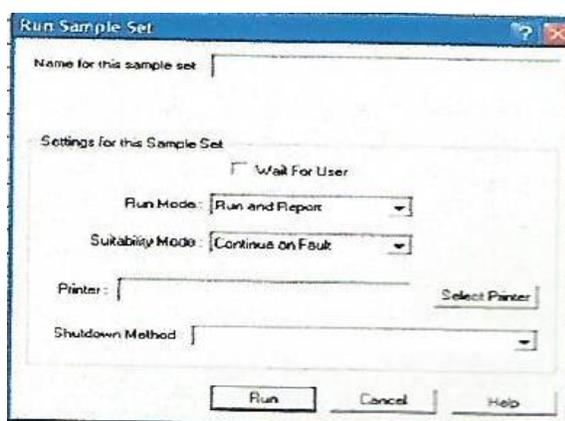


Figura 9

## 5.5. Creación de Tabla de Integración

5.5.1. Una vez creado el método, se deben establecer las condiciones de integración.

5.5.2. Entrar en EDIT  OPEN  METHOD SET. Ver Figura 2.

5.5.3. En la tabla de abajo, dentro de la ventana, suprimir la primera fila actual y desplegar en la columna de CHANNEL NAME, seleccionando la longitud de onda establecida anteriormente en el método.

5.5.4. Luego desplegar en la columna de **PROCESSING METHOD** el método creado. Esto habilita en **Default Processing Method** en la misma ventana, desplegar y seleccionar nuevamente el método creado **EDIT**, aparece la siguiente ventana:

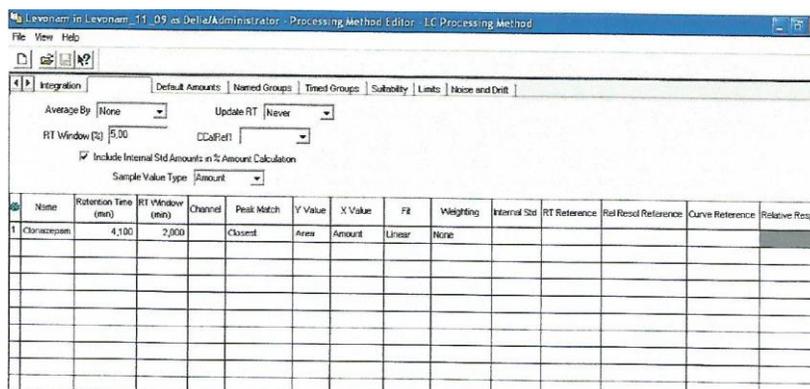


Figura 10

5.5.5. En la pestaña de **Integración**, establecer las condiciones de tiempo para el/los pico/picos a ser identificados durante una corrida, así también el ancho de los mismos el Peak Width y Threshold.

5.5.6. En la pestaña de componentes se establece el Nombre del o los pico/s y su tiempo de retención. **FILE SAVE AS. FILE EXIT** →

5.5.7. Se vuelve a la ventana inicial, de nuevo, **FILE SAVE AS. FILE EXIT**.

## 5.6. Edición de Cromatogramas

5.6.1. Durante la corrida de una inyección, después de que el pico principal se encuentra identificado, el cromatograma puede observarse dando un clic en el ícono de **FILE OPEN METHOD SET**. →

5.6.2. Aparece una nueva ventana, seleccionar el método **NUEVO** o **GENERAL**. En el cromatograma se observa el pico principal y su correspondiente área de acuerdo a las condiciones de integración establecidas.

5.6.3. Para editar el reporte o cromatograma se hace clic primeramente en **Review**. Luego en **Integrate, Cuantitate** y se guarda el resultado.

5.6.4. Para imprimir el cromatograma, ir hasta la pestaña de Results, dar clic en Update, seleccionar la corrida con el cambio realizado a imprimir.

## 5.7. Apagado del Sistema UPLC

5.7.1. Cuando el equipo se deja trabajando toda la noche se debe observar que todos los frascos de las bombas estén con disolvente para evitar la entrada de aire a las bombas.

5.7.2. Una vez terminada la secuencia, programar al final de la misma el “apagado automático”

5.7.3. Si el proceso se termina el mismo día en que se comenzó, se puede empezar la limpieza con el programa creado para el “Lavado” que tomará Metanol: Agua en una proporción de (90:10), e ir subiendo de a poco el flujo.



## USO DEL UPLC WATERS

**Código:** ITR-LCC-127  
**Emisor:** DGT-DL-DLQ-LCC  
**Versión:** 01  
**Vigente:** 03/04/2023  
**Página:** 9 de 9

### 5.8. Verificación del Sistema UPLC

Las operaciones de verificación intermedia del estado del equipo se realizan mediante la inyección de un material de referencia certificado o estándar primario con columna específica e identificada para tal efecto. La misma se registra FOR-LCC-114  
La frecuencia de verificación es la misma que la que figura en el FOR-DL-110 Plan Anual de Evaluación de los Ensayos.

### 5.9. Calificación:

La frecuencia de calificación se registra en el Plan de Calibración FOR-DL-003

### 5.10. Mantenimiento

El Responsable de la Unidad de Mantenimiento de Equipos de Laboratorio, es el encargado de realizar el mantenimiento de este equipo. La frecuencia de mantenimiento es anual, esto se verifica en el FOR-DL-004 Plan de Mantenimiento.

## 6. CONTROL DE CAMBIOS

Ítem	Página	Cambios
NA	1	Proviene de un Sistema de Gestión de Calidad de la Norma NP-ISO/IEC 17025:2018. La DL adopta el SGCI del SENAVE en cumplimiento de la Resolución SENAVE N° 42/2023 "Control de documentos", versión 04. Se realiza el cambio de formato al SGCI del ITR-LCC-127 ver: 04 Vigencia: 10/09/2021, pasa a la versión 01, teniendo en cuenta lo establecido en la Nota 02 del PRO-DSGC-001 "Control de documentos".

## 7. REGISTRO

Nombre del Documento	Código	Área de archivo	Responsable	Tiempo de retención por dependencia	Disposición Final
Plan de Mantenimiento	FOR-DL-004	Sala de archivos, Página web enlace del Sistema de Gestión de Calidad	Jefe de área	5 años	Eliminación
Plan Anual de Evaluación de los Ensayos.	FOR-DL-110		Jefe de área	5 años	Eliminación
Panilla de verificación de equipos cromatográfico	FOR-LCC-114		Jefe de área	5 años	Eliminación
Plan de Calibración	FOR-DL-003		Jefe de área	5 años	Eliminación
Protocolo de Trabajo	FOR-LCC-189		Jefe de área	5 años	Eliminación
Informe de Resultados de Ensayo LCC	FOR-LCC-134		Jefe de área	5 años	Eliminación

## 8. ANEXOS

No Aplica