SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS – SENAVE	**USO DEL UPC WATERS**	**Código:** ITR-DLQ-013 **Emisor:** DGT-DL-DLQ **Versión:** 01 **Página**: 1 de 9

USO DEL UPLC WATERS

ELABORADO POR	VERIFICADO POR	VISTO BUENO DE
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 del LCCPF Jefa de DLQ	**Cargo:** Directora de Laboratorios	**Cargo:** Directora General Técnica
Firma: **Fecha:** 07/10/26	**Firma:** **Fecha:** 07/10/26	**Firma:** **Fecha:** 08/10/26

1. OBJETIVO

Establecer los pasos a seguir para la adecuada operación del Cromatógrafo Líquido de Ultra Alta Performance (UPLC) con Detector de Arreglo de Diodos.

2. ALCANCE

Este instructivo aplica exclusivamente a los análisis para la identificación y cuantificación de principios activos de productos Fitosanitarios del LCCPF que se desarrollan en los equipos marca Waters, con Códigos Nº: LC.UPLC.01, LC.UPLC.02, LC.UPLC.03, LC.UPLC.06 y LC.UPLC.07. Comprende desde la puesta en marcha del sistema hasta la rutina de lavado posterior.

3. PROCEDIMIENTO VINCULADO

PRO-DL-002 EQUIPAMIENTO DEL LABORATORIO

4. SIGLAS Y DEFINICIONES

4.1. Siglas

4.1.1. DLQ: Departamento de Laboratorios Químicos.

4.1.2. LCCPF: Laboratorio de Control de Calidad de productos fitosanitarios.

4.1.3. UMEL: Unidad de Mantenimiento de Equipos de Laboratorio.

4.2. Definiciones

No Aplica

5. RESPONSABLES

El jefe del DLQ es responsable de asegurar la implementación y el cumplimiento del presente instructivo. El personal técnico es responsable de la correcta operación del equipo y UMEL responsable de coordinar, ejecutar y supervisar los planes de mantenimiento preventivo y correctivo del equipo.

6. ACTIVIDADES

6.1. Encendido del Sistema UPLC

6.1.1. Encender todos los módulos del equipo.

6.1.2. Encender la computadora, esperar que aparezca el ícono del programa "Empower", luego escribir el nombre del usuario en "USER IDENTIFICATION" y por último escribir el "PASSWORD" correspondiente.

6.1.3. Cambiar el contenido de las botellas de fases móviles, líquidos de lavado y purga, etiquetar.

6.1.4. Colocar la columna adecuada dentro del pora columnas de acuerdo a la metodología a realizar o a desarrollar.

6.2. Crear Proyecto

6.2.1. En el menú principal, hacer clic en Configure System.

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

6.2.3. Luego en la siguiente ventana tildar (√) la opción PHOTO DIODE ARRAY → SIGUIENTE.

6.2.4. Para la primera condición de esta ventana, Allways Acces, tildar (√) la opción OWNER, GROUP AND WORLD, en la segunda condición de la misma ventana, Allways Acces to Group tildar (√) la opción ADMINISTRADOR → SIGUIENTE.

Lic. Olga Pavón SENAVE

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

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

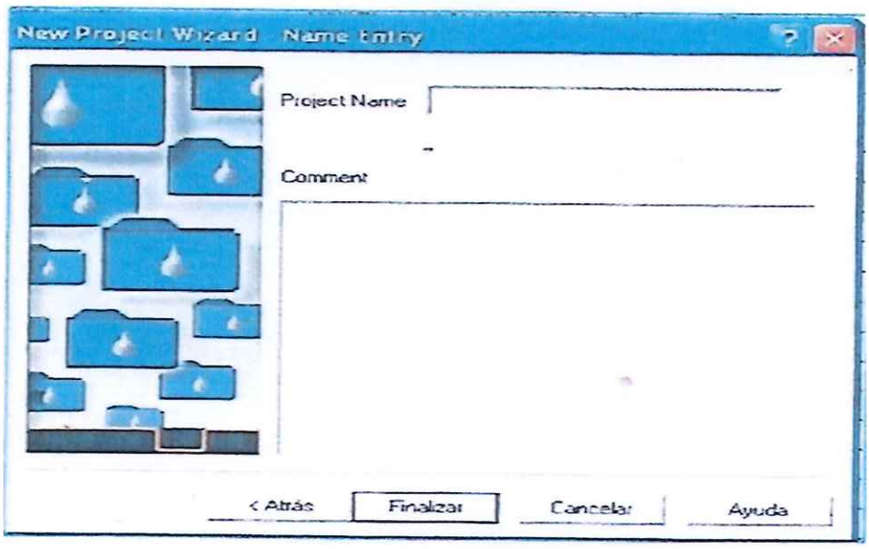
Carmen Berni Ing. Agr. Reg. COSAVE PY-078

Lic. Carmen Lug- SENAVE

mecip 2015

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

6.2.6. Nuevamente aparece una ventana como muestra la siguiente figura, en la cual se da nombre al proyecto y en el espacio destinado para los comentarios, se detalla el analisis a realizar → FINALIZAR

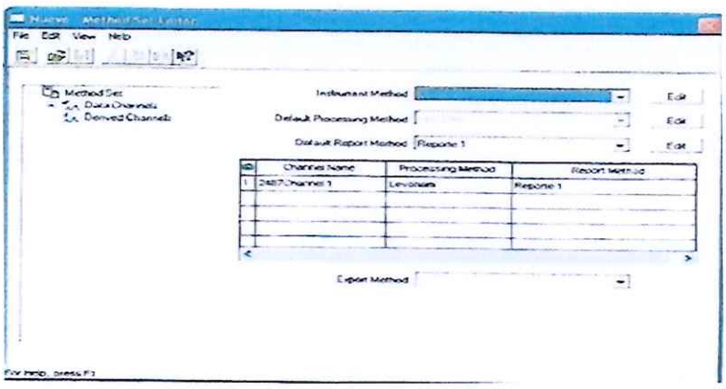


6.3. Crear un Método

6.3.1. 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 6.2.

6.3.2. En la ventana emergente, ir hasta EDIT→OPEN →METODO SET →seleccionar el método Nuevo o General →OPEN.

6.3.3. Aparece una ventana como se muestra en la figura, en la opción INSTRUMENT METHOD → EDIT.



6.3.4. Para habilitar el cuadro de selección de método en la segunda opción se debe suprimir la primera fila, en la primera columna CHANEL NAME, se establece la detección y en la segunda columna PROCESSING METHOD completar con el nombre del método creado.

6.3.5. Hacer clic en el ícono  que representa al inyector automático, termostato de columna, los límites de presión, el flujo. De esta manera se condiciona al equipo para trabajar de forma isocrática o gradiente según la necesidad del trabajo.

Lic. Olga Pavón SENAVE

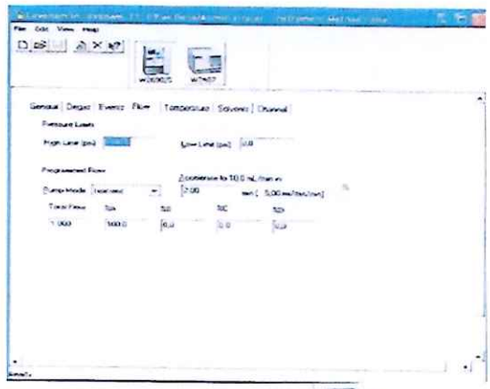
Msc. Leyla Sofía Díaz
Lic. Química - R.P.N° 497
Ing. Agrónoma- R.P.N° 8.544

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

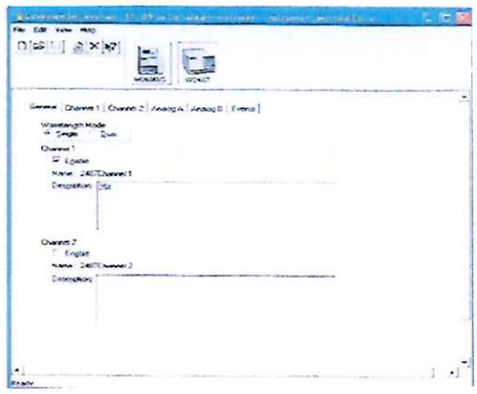
Lic. Carmen Lugo
SENAVE

Carmen Berni
Ing. Agr.
Reg. COSAVE PY-07

mecip 2015



6.3.6. Sin salir de la ventana, hacer clic en el icono  que representa al detector, se establece la longitud de onda de trabajo.



6.3.7. Una vez finalizado los pasos, se guarda el método. FILE → SAVE AS → NOMBRAR EL PROYECTO NUEVO. FILE → EXIT.

6.3.8. Hacer clic en el ícono DEFAUL PROCESSING METHOD → EDIT.

6.3.9. En el ícono de integración completar con el ancho y altura de acuerdo a la determinación realizada, entre otras opciones como inhibir Peak, Force Peak.



6.3.10. En la pestaña Componentes, nombrar el pico del ingrediente y establecer el tiempo de retención.

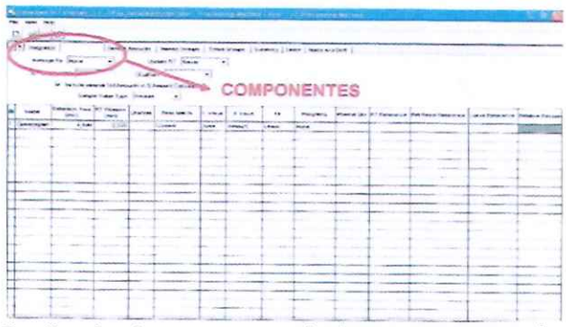
Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

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

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



6.3.11. Una vez finalizado los pasos anteriores se procede a guardar el método. FILE → SAVE AS → NOMBRAR EL PROYECTO NUEVO.FILE → EXIT.

6.3.12. Para habilitar el cuadro de selección de método en la segunda opción se debe suprimir la primera fila del cuadro.

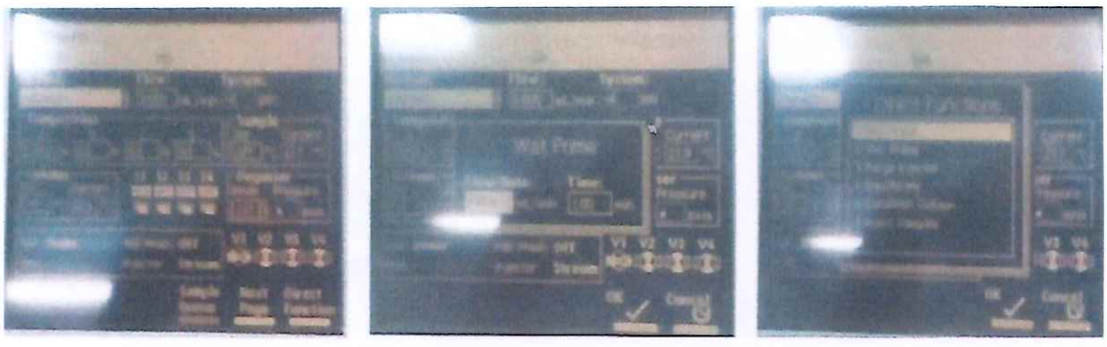
6.3.13. Para el tipo de reporte, seleccionar Reporte 1.

6.3.14. Finalizado los pasos, se procede a guardar el método. FILE → SAVE AS → NOMBRAR EL PROYECTO NUEVO.FILE → EXIT.

6.4. Creación de secuencia

6.4.1. Antes de comenzar la creación de la secuencia, verificar que el sistema se encuentre listo, seleccionar Instrument Method (A), el método a ser utilizado con los parámetros analíticos previamente creados y hacer clic en Setup.

6.4.2. Seleccionar la pestaña Wet Prime para establecer el tiempo y el flujo de manera a eliminar posibles burbujas presentes en el canal de los solventes.



6.4.3. Verificar si el sistema está en condiciones, observando que en la esquina inferior derecho de la ventana principal aparezca System Idle (B).

6.4.4. Luego seleccionar Run and Report (C).

6.4.5. Seleccionar Samples (D) planilla correspondiente a la muestra, para completar con los datos de la muestra a inyectar.

6.4.6. Clic en la primera columna Vial (E) del panel, indicar el número de vial correspondiente.

Lic. Olga Pavón
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-018

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

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

mecip 2015

6.4.7. En la siguiente columna Sample Name (F), completar con el nombre de lo que se inyectará.

6.4.8. En la sección Injection Vol (G), completar volumen de inyección cuya unidad de medida es en µL.

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

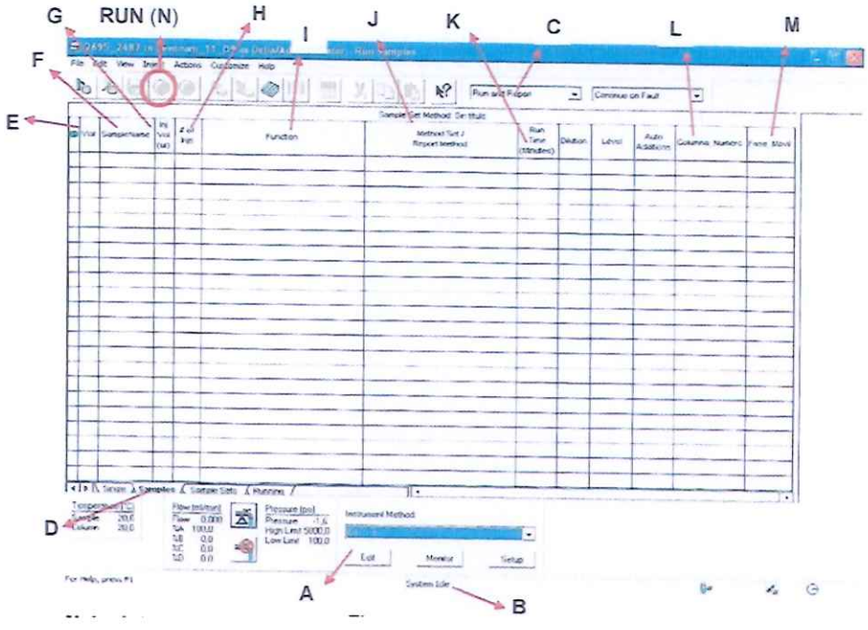
6.4.10. Clic en Funtion (I), se desplegará las opciones y se deberá seleccionar, en caso de ser una referencia o estándar. Inject Reference o Inject Standards y para la muestra Inject Sample.

6.4.11. Cilc en la columna Method Set/Report Method (J), donde se desplegará las opciones de manera a selccionar el método.

6.4.12. En la siguiente sección Run Time (K), completar con el tiempo en minutos para la corrida de trabajo.

6.4.13. En la Columna_Número (L) completar con las características de la columna como por ejemplo C-18.

6.4.14. En la última sección, Fase Móvil (M), si es necesario completar con el nombre de la fase móvil a utilizar, o de lo contrario dejar sin efecto.



6.4.15. Una vez terminado los pasos anteriores, hacer clic en Run (N) y aparecerá la ventana correspondiente al campo Name for this simple set con el nombre del análisis a realizar, seleccionar impresora, luego se desplegará las opciones de Shutdown Method y por último hacer clic en Run para dar comienzo a la secuencia de inyecciones.

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

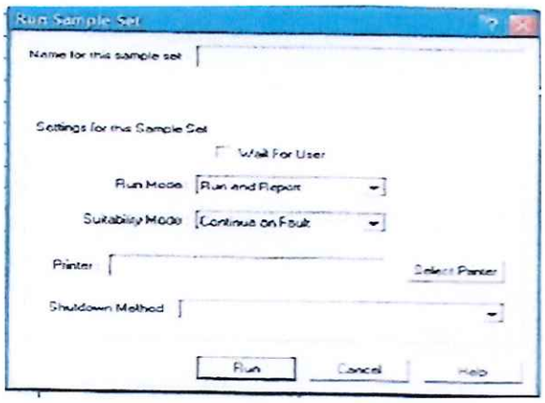
Lic. Carmen Lugo
SENAVE

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

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

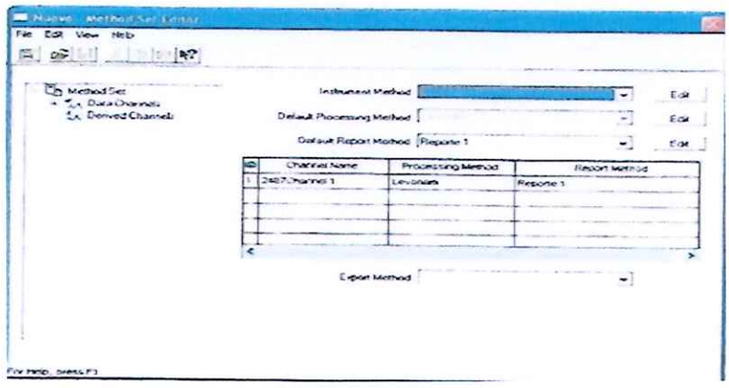
Lic. Olga Pavón
SENAVE

mecip 2015



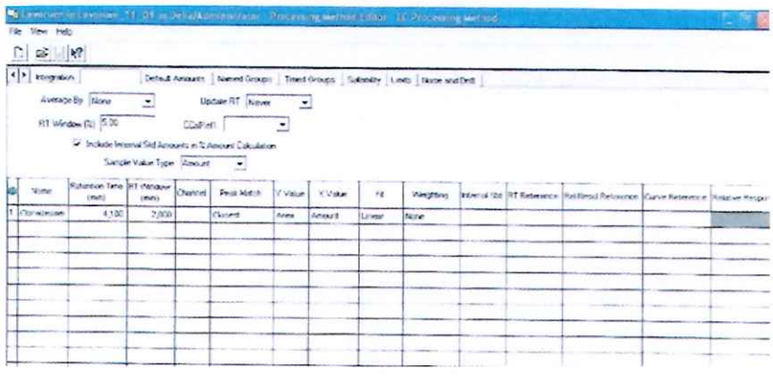
6.5. Creación de Tabla de Integración

6.5.1. Ingresar a EDIT → OPEN → METHOD SET



6.5.2. En la tabla suprimir la primera fila y desplegar en la columna de CHANNEL NAME, seleccionando la longitud de onda establecida para el método que será empleado.

6.5.3. Luego desplegar en la columna de PROCESSING METHOD el método creado. Esto habilita en Default Processing Method en la misma ventana, desplegar y selccionar nuevamente el método creado, aparecerá la siguiente ventana:



6.5.4. En la pestaña de Integración, establecer las condiciones de tiempo y ancho de los picos a ser identificados. Peak Wicth y Threshold.

6.5.5. En la pestaña de componentes se establece el nombre de picos y su tiempo de retención. FILE → SAVE AS → FILE → EXIT.

6.5.6. Se vuelve a la ventana inicial, y de nuevo FILE → SAVE AS → FILE → EXIT.

6.6. Edición de Cromatogramas

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

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

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

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

mecip 2015

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

6.6.2. Aparecerá una nueva ventana, seleccionar el método que será utilizado; en el cromatograma se observará el pico principal y su correspondiente área de acuerdo a las condiciones de integración establecidas.

6.6.3. Para editar el reporte o cromatograma se hace clic primeramente en Review, luego en Integrate, Cuantitate y se guarda el resultado.

6.6.4. Para imprimir el cromatograma, ir hasta la pestaña de Results, hacer clic en Update, seleccionar la corrida con el cambio realizado de manera a poder imprimir el cromatograma.

6.7. Apagado del Sistema UPLC

6.7.1. Cuando el equipo se deja trabajando después de las horas laborales establecidas, se debe verificar que los frascos que comunican con la bomba no estén vacíos para evitar la entrada de aire a las mismas.

6.7.2. Una vez terminada la secuencia, programar al final de la misma el "Apagado automático".

6.7.3. Si la secuencia termina antes de culminar el horario laboral, se puede empezar la limpieza con el programa creado para el "Lavado" que corresponde a la proporción de Metanol:Agua 90:10 e ir aumentando el flujo gradualmente.

6.8. 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 la columna especifica e identificada para tal efecto. La misma se registra en el FOR-DLQ-033 Planilla de Verificación de Equipos Cromatográficos.

La frecuencia de verificación se encuentra establecido en el FOR-DLQ-024 Programa Anual de Evaluación de la Calidad de los Ensayos.

6.9. Calificación

El equipo debe contar con calificación vigente ejecutada por parte del representante de la marca.

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

6.10. Mantenimiento

a) La programación del mantenimiento preventivo y correctivo del equipo está a cargo de la UMEL, la actividad se controla y registran a través del documento FOR-DL-004 Plan de Mantenimiento

b) La frecuencia para el mantenimiento preventivo del equipo es anual.

7. CONTROL DE CAMBIOS

Ítem	Página	Cambios
----	----	----

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

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

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

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

8. DOCUMENTOS

Nombre del documento	Código	Área de archivo	Responsable	Tiempo de retención por dependencia	Disposición final
Plan de Mantenimiento	FOR-DL-004	Sala de archivos	UMEL	5 años	Digitalización
Planilla de Verificación de equipos cromatograficos	FOR-DLQ-033	Sala de archivos	Técnicos	5 años	Digitalización
Control diario de temperatura y humedad ambiental	FOR-DL-009	Sala de archivos	Técnicos	5 años	Digitalización
Plan Anual de Evaluación de los ensayos	FOR-DLQ-024	Sala de archivos	Técnicos/Jefe	5 años	Digitalización
Plan de Calibración	FOR-DL-003	Sala de archivos	UMEL	5 años	Digitalización

9. APROBACIÓN DEL DOCUMENTO

APROBACIÓN POR LA MAE	
Nombre y Apellido	
Fecha 28/10/26	
Vigencia	El documento entrará en vigencia cinco días hábiles desde la fecha de promulgación de la resolución.

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

Lic. Carmen [illegible]
SENAVE

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

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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