DETERMINACIÓN DE CLORPIRIFOS POR UPLC

ELABORADO POR	VERIFICADO POR	APROBADO POR
Nombre y Apellido: Lic. Carmen Lugo Lic. Claudia Montiel Lic. Leyla Díaz	**Nombre y Apellido:** Lic. Olga Pavón	**Nombre y Apellido:** Ing. Agr. Carmen Berni
Cargo: Técnica Analista Jefa de DLQ	**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 Clorpirifos en productos formulados y grado técnico, a fin de asegurar la aplicación uniforme del método de ensayo y la confiabilidad de los resultados.

2. ALCANCE

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

3. DOCUMENTO DE REFERENCIA

CIPAC Handbook K. Análisis y técnicas de formulaciones de pesticidas. Edición 2003.

4. SIGLAS

4.1. ACN: Acetonitrilo.

4.2. H_2O: Agua.

4.3. DLQ: Departamento de Laboratorios Químicos.

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

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. Desionizador de Osmosis

6.2. Materiales:

a. Matraces de 50mL.
b. Viales de 2mL.
c. Espátula.
d. Kitasato de 1000mL.
e. Probeta de 1000mL.
f. Parafilm.
g. Columna C18 2,1 x 100mm, 3,5 µ.
h. Membrana de nylon 0,45 µm x 25mm.
i. Membrana de nylon 0,22 µm x 47 mm.

6.3. Reactivos:

a. Agua desionizada.

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

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

Lic. Carmen Lugo

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

b. Estándar Clorpirifos.

c. Ácido acético.

d. Metanol grado HPLC.

e. Acetonitrilo grado HPLC.

6.4. Desarrollo del Ensayo

6.4.1. Determinación de la densidad de la muestra:

Colocar en el picnómetro limpio, seco y previamente tarado, la cantidad de agua desionizada necesaria hasta alcanzar la marca del mismo cuidando que no formen burbujas. Tapar y colocar el termómetro (el agua debe estar a 20ºC). Secar por fuera con papel tissue y pesar en la balanza analítica. Realizar el mismo procedimiento para la muestra. Aplicar la siguiente fórmula para obtener la densidad en g/mL. Los registros generados se encuentran en el FOR-DLQ-016 Protocolo de Trabajo LCCPF, para obtener el valor de la densidad 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 Solución diluyente de ácido sulfúrico 0,5% v/v:

Ídem a la fase móvil.

6.4.3. Preparación de la fase móvil:

Mezclar 820 mL de acetonitrilo, 175 mL de agua desionizada y 5 mL de ácido acético. Filtrar la mezcla con una membrana de nylon de 0,22 µm de porosidad y colocarla en la bomba D de equipo UPLC.

6.4.4. Preparación de la solución estándar:

Pesar exactamente alrededor de 20 mg con una precisión de ±1 mg del estándar de clorpirifos en un matraz de 50 mL y registrar en el FOR-DLQ-053 Planilla de pesos de muestras analizadas, agregar solución diluyente 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 solución diluyente para obtener una concentración de 0,4 mg/mL. Filtrar con filtro nylon de 0,45 µm y colocar en un vial. Realizar los cálculos de concentración en mg/ml. Inyectar en el UPLC.

6.4.5. 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 clorpirifos en la misma debe ser de aproximadamente 0,4 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:

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

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

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

Ing. Agr. Claudia L. Montiel C.
Mat. Profesional N° 8362

Lic. Claudia Montiel
SENAVE

mecip 2015

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

Donde:

Conc std: concentración del estándar

% mta: porcentaje del principio activo en la muestra

6.5. Condiciones Cromatográficas:

a. Columna: C18 de dimensiones 2,1 x 100mm, 3,5 µ.

b. Fase Móvil: ACN:H2O:Ácido acético (820:175:5).

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

d. Flujo: 0,5 mL/min.

e. Volumen de inyección: 5 µL.

f. Detector UV: 300 nm.

g. Tiempo de retención: entre 0,8 min a 1,2 min aproximadamente.

h. Tiempo de corrida: 5 min.

i. Tiempo de acodicionamiento (estabilización): aproximadamente 30 min.

j. Esquema de inyección: Tanto la solución estándar como de las muestras se inyectan por duplicado de manera a obtener una desviación relativa estándar (DRS%) menor a 2%.

k. Temperatura de columna: 40 °C.

l. Solución diluyente: Fase móvil.

6.6. Cálculos:

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

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

A_{mta}: Promedio de las áreas de los picos de Clorpirifos en la muestra.
A_{St} : Promedio de las áreas de los picos de Closrpirifos 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

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

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

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

mecip 2015

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

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

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

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

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

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

9. APROBACIÓN DEL DOCUMENTO

APROBACIÓN POR LA DGT	
Nombre y Apellido	Carmen Berni Ing. Agr. Reg. COSAVE PY-078
Fecha	05/10/26
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

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

Lic. Claudia Montiel
SENAVE

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