DETERMINACION DE MULTIRESIDUOS EN SEMILLAS OLEAGINOSAS POR QUECHERS Y LC-MS/MS

ELABORADO POR:	VERIFICADO POR:	VISTO BUENO DE:
Nombre y Apellido: Lic. Leyla Díaz Lic. Laura Lezcano	**Nombre y Apellido:** Lic. Olga Pavón	**Nombre y Apellido:** Ing. Agr. Carmen Berni
Cargo: Jefa Técnico Departamento de Laboratorio Químicos (DLQ)	**Cargo:** Directora Dirección de Laboratorios (DL)	**Cargo:** Directora General Dirección General Técnica (DGT)
Firma: **Fecha:**	**Firma:** **Fecha:**	**Firma:** **Fecha:** 05/10/26

1. OBJETIVO

Establecer el procedimiento analítico para determinar multiresiduos de plaguicidas en semillas oleaginosas mediante el método QuEChERS y su cuantificación por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS).

2. ALCANCE

Aplica al análisis de muestras de semillas oleaginosas procesadas en el laboratorio, desde la preparación de muestras, extracción, limpieza, determinación instrumental de residuos de plaguicidas hasta la emisión de los resultados.

3. DOCUMENTO DE REFERENCIA

3.1 Procedimiento AOAC 2007.1/ Quechers Methodology: AOAC Method.

3.2 Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed (SANTE/12682/2019).

4. SIGLAS

4.1 Siglas:

4.1.1 mg/kg y mg/L: Es el equivalente a ppm.

4.1.2 LRCV: Laboratorio de Residuos y Contaminantes en Productos y Subproductos Vegetales.

4.1.3 LC-MS/MS: Cromatografía Líquida con detector de Masa/Masa.

5. RESPONSABLE

El Departamento de Laboratorios Químicos es responsable de asegurar la correcta implementación del procedimiento. Los técnicos del área deben ejecutar cada etapa del método, registrar la información en los formularios correspondientes y garantizar el cumplimiento de los lineamientos técnicos establecidos.

6. ACTIVIDADES

Se describen los equipos y materiales a emplear en el ensayo:

6.1 Equipos:

a) Cromatógrafo Líquido con detector de Masa/Masa

b) Agitador Vortex

c) Baño Ultrasónico

d) 1.4 Balanza analítica

e) Desionizador ultrapuro

f) Balanza granataria

6.2 Materiales:

a) Espátula de metal

b) Matraz de vidrio con tapa de 10 ml

c) Jeringa de 5ml

d) Matraces vidrio con tapa de 100mL

e) Probeta de vidrio de 100 ml

f) Pipeta automática o micropipeta 100 a 1000µl

g) Vasos de precipitado 100 ml

h) Viales de vidrio con tapa de 2 ml

i) Tubos de plástico con tapa de 50 ml

j) Filtro minisart 0,2 µm

Lic. Olga Pavón
SENAVE

mecip 2015

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

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

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

6.3 Reactivos:

a) Material de referencia certificado

b) Acetona grado HPLC

c) Acetona p.a

d) Acetonitrilo grado HPLC

e) Acido acetico p.a

f) Metanol grado HPLC

g) Agua grado HPLC

h) Acetato de amonio p.a

6.4 Desarrollo del ensayo:

6.4.1 Preparación de la solución del estándar:

a) Solución madre

Pesar el material de referencia certificado para preparar una solución madre de concentración 1000mg/L, utilizando como disolvente metanol.

Para principios activos cuyo solvente de dilución sea diferente al metanol ver ficha del material de referencia certificado, etiquetar con el FOR-DLQ-013 Etiqueta de Preparación de Soluciones. Mantener refrigerado entre 2 a 8 ºC. El vencimiento de las soluciones madres es de 1 año.

Los datos se registran en el cuaderno de ensayos de laboratorio LRCV, Código FOR-DLQ-040.

b) Soluciones de Trabajo.

Se prepara partir de la solución madre 1000mg/L tomando un volumen adecuado para obtener una concentración aproximadamente 10 mg/L, utilizando como disolvente metanol, etiquetar con el FOR-DLQ-013 Etiqueta de Preparación de Soluciones.

Se guarda a temperatura inferior a 10ºC y tiene una validez máxima de 6 meses, y solo se puede utilizar dentro del periodo de validez de la Solución madre.

Los datos se registran en el cuaderno de ensayos de laboratorio LRCV, Código FOR-DLQ-040

c) Niveles

Se prepara cinco concentraciones que incluyan el valor de LMR del plaguicida en la matriz, dos puntos por arriba y dos puntos por debajo, se utiliza metanol como solvente, agitar y etiquetar con el FOR-DLQ-013 Etiqueta de Preparación de Soluciones.

Se guarda a temperatura inferior a 10 °C y tiene una validez máxima de 3 meses, y solo se pueden utilizar dentro del periodo de validez de la Solución madre.

Los datos se registran en el cuaderno de ensayos de laboratorio LRCV, Código FOR-DLQ-040

6.4.2 Preparación de las muestras a ser ensayadas:

6.4.2.1 Procesamiento

Las muestras no se lavan para su procesamiento.

Procesar uniformemente las muestras con la licuadora.

6.4.2.2 Extracción

a) Homogeneizar la muestra.

b) Pesar 5 g de producto homogeneizado en un tubo plano de 50 ml
c) Añadir 10 ml de agua y dejar reposar 10 minutos.

d) Añadir 15 ml de ácido acético al 1% en acetonitrilo (v / v) y una cantidad apropiada de una solución de patrón interno.

Lic. Olga Pavón
SENAVE

mecip 2015

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

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

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

e) Agregar el sulfato de magnesio 6 g ±0,3 g anhidro y 1,5 g ± 0,1 g de acetato de sodio, anhidro.

f) Agitar en Vortex o a mano durante 1 minuto.

6.4.3 Separación de Fases

Centrifugar durante 5 minutos a 2500 rpm para separar el material sólido.

6.4.4 Clean-up

a) Tomar 1 ml del sobrenadante colocar en el tubo de 2ml que contiene 50 mg de PSA, 150 mg de MgSO4, y 50 mg de C18.

b) Agitar a mano 30 segundos o con Vortex 1 minuto.

c) Centrifugar durante 2 minutos a 5500 rpm para separar el material sólido.

d) Tomar 1ml de la solución centrifugada, filtrar con filtro 0.22µm y verter en un vial de 2 ml y se inyecta en el LC/MS/MS.

6.4.5 Preparación de muestras fortificadas:

Para fortificar las muestras se debe agregar la Solución de trabajo, una vez agregado se homogeniza la muestra agitando manualmente el vaso que contiene la muestra fortificada, dejar reposar unos minutos y proceder a la extracción descrita anteriormente.

6.5 Condiciones cromatográficas:

6.5.1 Cromatógrafo Líquido LC- MS

a) Columna: C18 x 2.1 mm X 150mm. Tamaño de partícula: 5µm.

b) Temperatura de columna: 40 ° C.

c) Flujo: 0,2 ml/min.

d) Fase Móvil A: Solución acuosa de acetato de amonio 5 mmol/L

e) Fase Móvil B: Solución de acetato de amonio en metanol 5 mmol/L

Gradiente: la solución tanto A como B según la pendiente de concentración mencionada en la tabla que se encuentra abajo

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)
0	85	15
1	60	40
3,5	60	40
6	50	50
8	45	55
17,5	5	95
20	5	95

6.6 Preparación de la fase móvil

a) Solución acuosa de acetato de amonio 5 mmol/L (solución A de la fase móvil) Tomar 1 mL de la solución acuosa de acetato de amonio 5 mol/L (38,5 g/100 mL) (conservada en refrigeración) y agregar agua para obtener 1L de la solución (conservarla en refrigeración y el plazo de uso es de 1 mes).

b) Solución de metanol/acetato de amonio 5 mmol/L (solución B de la fase móvil) Tomar 2 mL de la solución de metanol/acetato de amonio 2,5 mol/L (19,3 g/100 mL) (conservada en refrigeración) y agregar metanol para obtener 1L de la solución (conservarla en refrigeración y el plazo de uso es de 1 mes).

Lic. Olga Pavón
SENAVE

mecip 2015

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

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

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

6.7 Cálculos:

6.7.1 Fortificación:

C1. V1 = C2. V2

Donde:

C1: concentración del Mix.

V1: Volumen con el cual fortificar

C2: concentración con la cual se desea fortificar

V2: Peso de muestra

En muestra] = Conc. del Plaguicida en el vial x Volumen Mtra x Vol final x Factor de dilución
Vol usado x Peso de la mtra

Concentración del Plag. en el vial: se obtiene de la curva de calibración, por regresión lineal

% R = Concentración de Plaguicida en muestra x 100
Concentración teórica de plaguicida en muestra

Notas: Los resultados se expresan en mg/kg, con 2 dígitos después de la coma

7. CONTROL DE CAMBIOS

Item	Página	Cambios

8. DOCUMENTOS

Nombre del Documento	Código	Área de archivo	Responsable	Tiempo de retención por dependencia	Disposición Final
Protocolo de trabajo LRCV	FOR-DLQ-014	Sala de archivos	Técnicos	5 años	Eliminación
Preparación de Soluciones	FOR-DLQ-013	Sala de Estándar	Técnicos	5 años	Eliminación
Cuaderno de Laboratorio LRCV	FOR-DLQ-040	Sala de Equipos	Técnicos	5 años	Eliminación
Planilla de Uso del LCMSMS	FOR-DLQ-022	Sala de Equipos	Técnicos	5 años	Eliminación
Esquema de inyección de LCMSMS	FOR-DLQ-023	Sala de archivos	Técnicos	5 años	Eliminación
Historial de ensayos	FOR-DLQ-021	SILAB	Técnicos	5 años	Eliminación

Lic. Olga Pavón
SENAVE

mecip 2015

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

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

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

9. APROBACIÓN DEL DOCUMENTO

APROBACIÓN POR LA DGT	
Nombre y Apellido	Carmen Berni Ing. Agr.
Fecha	05/10/26 Reg. COSAVE PY-078
Vigencia	El presente documento será de aplicación a partir del día hábil siguiente a la fecha de su aprobación.

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

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