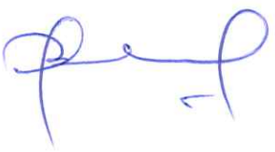
DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE 2,4-D EN MUESTRAS DE AGUA POR LC MS-MS

ELABORADO POR:	VERIFICADO POR:	VISTO BUENO DE:
Nombre y Apellido: Lic. Leyla Díaz Lic Fabian Nuñez	**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:** 01/10/26	**Firma:**  **Fecha:** 02/10/26	**Firma:**  **Fecha:** 05/10/26

1. OBJETIVO

Establecer el procedimiento para la determinación de residuos de 2,4-D en muestras de agua mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS).

2. ALCANCE

Este procedimiento aplica al análisis de agua de consumo humano y agua de escorrentía para evaluar la presencia de residuos de 2,4-D. El método cubre desde la preparación de la muestra, la lectura instrumental en LC-MS/MS y la emisión del resultado.

3. DOCUMENTO DE REFERENCIA

3.1 Multiresidue Analysis of 301 Pesticides in waters Samples by LC/Triple Quadrupole Mass Spectrometry.

3.2 Determinación de Residuos de Plaguicidas y Productos de Transformación en agua por Cromatografía Liquida-Espectrometría de Masas Tandem (LC MSMS) Jose M.Marin, juan V Sancho, Oscar J.Pozo, Francisco J. Lopezy Felix Hernandez- Journal of Chromatography A 1133(2006)204-214 Capitulo 2.

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

4. SIGLAS

4.1 Siglas:

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

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

c. LC: Cromatografía Líquida.

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

e. LMR: Límite Máximo de Residuos

f. MRC: Material de Referencia Certificado

5. RESPONSABLE

El jefe del Departamento de Laboratorios Químicos es responsable de garantizar el cumplimiento del procedimiento. Los técnicos analistas deben aplicar correctamente cada etapa, desde la preparación de estándares y muestras hasta la operación del equipo LC-MS/MS. También deben registrar los resultados en los formularios establecidos y asegurar la trazabilidad del ensayo.

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. Balanza analítica

e. Desionizador ultrapuro

6.2 Materiales:

a. Jeringa de 5mL

b. Matraz de vidrio con tapa de 10 mL

c. Matraces de vidrio con tapa de 100 mL

d. Probeta de vidrio de 1000 mL

e. Pipeta automática o micropipeta 100 a 1000µL

f. Viales de vidrio con tapa de 2 mL

g. Filtro minisart 0,2 µm

6.3 Reactivos:

a. Material de Referencia Certificado

Msc. Leyla Sofía Díaz
Lic. Química - R.P.N° 497
Ing. Agrónoma - R.P.N° 1.544

Lic. Fabián Núñez
SENAVE

Lic. Olga Pavón
SENAVE

b. Acetona p.a

c. Acetonitrilo grado HPLC

d. Metanol grado HPLC

e. Agua grado HPLC

f. Acetato de amonio p.a

6.4 Desarrollo del ensayo:

6.4.1 Preparación de la solución del estándar:

a. Solución madre

Pesar el MRC de modo a preparar una solución madre de concentración 1000mg/L, utilizar como disolvente metanol.

Mantener refrigerado entre 2 a 8 ºC. El vencimiento de las soluciones madres es de 1 año.

Registrar los datos en el FOR-DLQ-040 Cuaderno de Laboratorio LRCV.

b. Soluciones de Trabajo.

Preparar a partir de la solución madre 1000mg/L: tomar un volumen adecuado para obtener una concentración de aproximadamente 10 mg/L, utilizar como disolvente metanol, etiquetar con el FOR-DLQ-013 Preparación de Soluciones.

Almacenar a temperatura inferior a 10ºC. El vencimiento de las soluciones de trabajo es máximo 6 meses, y solo se podrá utilizar dentro del periodo de validez de la Solución madre.

Registrar los datos en el FOR-DLQ-040 Cuaderno de Laboratorio LRCV.

c. Niveles

Preparar cinco niveles con concentraciones que incluyan el valor de LMR del plaguicida en la matriz como punto medio, con dos puntos por arriba y dos puntos por debajo, utilizar metanol como solvente, agitar y etiquetar con el FOR-DLQ-013 Preparación de Soluciones.

Almacenar a temperatura inferior a 10 °C. Tendrán una validez máxima de 3 meses, y solo se podrán utilizar dentro del periodo de validez de la Solución madre.

Registrar los datos en el FOR-DLQ-040 Cuaderno de Laboratorio LRCV.

d. Preparación de la fase móvil

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 validez 1 mes).

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 validez 1 mes).

e. Preparación de las muestras a ser ensayadas:

Filtrar 10 mL de muestra con un embudo de buchnner y un matraz Kitasato

Tomar 1000µL de muestra, filtrado com filtro de membrana de 0,22µm.

Agitar en el Vortex por 15 segundos e inyectar en el LC-MS/MS.

f. Fortificación

Para fortificar las muestras, agregar un volumen calculado de estándar para obtener la concentración de fortificado deseado, una vez agregado este volumen, agitar el vaso que contiene la muestra fortificada por unos minutos y procede como menciona el punto 6.4.3.

Cálculo:

$C1.\ V1 = C2.\ V2$

Donde:

C1: Concentración del Estándar.

V1: Volumen con el cuál fortificar

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

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Fabián Núñez
SENAVE

C2: Concentración de fortificación deseada

V2: Volumen final de la solución en mL

6.5. Condiciones cromatográficas:

g. Cromatógrafo Líquido LC- MS/MS

- Columna: C18 x 2.1 mm x 150mm. Tamaño de partícula: 5µm.
- Temperatura de columna: 40 ° C.
- Flujo: 0,4 mL/min.
- Fase Móvil A: Solución acuosa de acetato de amonio 5 mmol/L
- Fase Móvil B: Solución de acetato de amonio en metanol 5 mmol/L

h. Cálculos:

Después de elaborar la curva de calibración con diferentes concentraciones que incluyan el límite de cuantificación, por medio del método de altura de pico o método de área de pico, llevar a cabo la cuantificación.

Establecer una curva de calibración apropiada según el valor de la detección y la linealidad de la curva.

Utilizando la curva de calibración elaborada, realizar la cuantificación según la fórmula mencionada abajo.

Contenido del plaguicida (mg/Kg) = *C* x *Fd*

Donde

C: concentración obtenida de la solución para la prueba según la curva de calibración (µg/mL)

Fd: Factor de Dilución

Porcentaje de Recuperación

$$\% R = \frac{\text{(Plaguicida en muestra)}}{\text{(Plaguicida agregado)}} \times 100$$

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

Registrar el esquema de inyección utilizado en el FOR-DLQ-023 Esquema de inyección de LC-MS/MS y el uso del equipo en el FOR-DLQ-022 Planilla de Uso del LC-MS/MS.

Registrar los resultados obtenidos en el FOR-DLQ-014 Protocolo de trabajo LRCV y en el FOR-DLQ-017 Informe de Resultados de Ensayo.

7. CONTROL DE CAMBIOS

Item	Página	Cambios

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Fabián Núñez
SENAVE

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

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
Informe de Resultado LRCV	FOR-DLQ-017	Sala de archivos	Técnicos	5 años	Eliminación

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.

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

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Fabián Núñez
SENAVE