DETERMINACION DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN ARROZ POR LC-MS/MS

ELABORADO POR:	VERIFICADO POR:	APROBADO POR:
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:** 01/10/26	**Firma:** **Fecha:** 02/10/26	**Firma:** **Fecha:** 05/10/26

1. OBJETIVO

Establecer la metodología para la determinación de residuos de plaguicidas en muestras de arroz mediante análisis cromatográfico LC-MS/MS.

2. ALCANCE

Este método aplica al análisis de residuos de plaguicidas en arroz procesado dentro del laboratorio, el procesamiento, la extracción y la detección instrumental por LC-MS/MS, hasta la emisión de los resultados.

3. DOCUMENTO DE REFERENCIA

3.2 Procedimiento AOAC 2007.1/ Quechers Methodology: AOAC Method.

3.2 L.Pareja, VCesio, H Heinzen, and A R Fernandez-Alba. Evaluation of various QuEChERS based methods for the analysis of herbicides and other commonly used pesticides in polished rice by LC-MS/MS. Talanta. 83(5): 1613–1622, 2011.

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.

g. Clean up: Limpieza.

5. RESPONSABLE

El Departamento de Laboratorios Químicos es responsable de asegurar la correcta aplicación del procedimiento. Los técnicos deben realizar cada etapa del análisis, desde la preparación de estándares y extracción de la muestra hasta la lectura instrumental y el registro de resultados.

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) Balanza granataria

f) Centrifuga

g) Trituradora Robo coup

h) Desionizador ultrapuro

6.2 Materiales:

a) Espátula de metal

b) Matraz de vidrio con tapa de 10 ml

c) Matraces de vidrio con tapa de 100ml

d) Probeta de vidrio de 1000 ml

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

mecip 2015

e) Pipeta automática o micropipeta 100 a 1000µL

f) Tubos de plástico con tapa de 50ml

g) Viales de vidrio con tapa de 2 ml

h) Vaso de precipitado de 100 ml

i) Filtro minisart 0,2 µm

j) Jeringa descartable de 5 ml

k) Cartuchos de limpieza DSPE

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) Acido Sulfúrico p.a.

i) Acetato de amonio p.a

j) Sales de extraccion

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 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 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 Laboratorio LRCV, Código FOR-DLQ-040.

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

6.4.2 Preparación de las muestras a ser ensayadas

a. Procesamiento

Las muestras no se lavan para su procesamiento.

Procesar uniformemente las muestras con la trituradora.

b. Extracción

Homogeneizar la muestra para generar una muestra representativa uniforme.

Pesar 7,5 g de muestra homogeneizada en un tubo plano de 50 ml limpio, agregar 7,5 ml de agua desionizada y dejar reposar 30 min.

Añadir 15 ml de ácido acético al 1% en acetonitrilo (v / v).

Agregar Sulfato de magnesio anhidro 6 g ± 0,3 g y 1,5 g ± 0,1 g de acetato de sodio anhidro, contenido en un paquete/o pesar por separado los reactivos.

Agitar durante 4 minutos en agitador.

c. Separación de Fases

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

d. Secado y disolución

Tomar 4 ml del extracto.

Secar por corriente de nitrógeno.

Disolver el secado con 2 ml de solución de Agua: Acetonitrilo (50:50)

Filtrar con filtro PTFE 0,2 µm en un vial de 2 mL e inyectar en el LC/MS/MS.

e. Preparación de muestras fortificadas:

Para fortificar las muestras se debe agregar un volumen adecuado del estándar para obtener la concentración deseada, se homogeniza la muestra agitando manualmente el tubo que contiene la muestra fortificada, se deja reposar unos minutos y se procede a la extracción descrita anteriormente.

6.5 Condiciones cromatográficas:

6.5.1 Cromatógrafo Líquido LC- MS/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

Laura Lorena Lezcano
SENAVE

Msc. Leyla Sofía Díaz
Lic. Química - R.P.N° 497
Ing. Agrónoma - R.P.N° 2.5[illegible]

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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).

6.6 Cálculos:

6.6.1 Fortificación:

Concentración de la muestra (C_{mtra})

$$(C_{mtra}): \frac{\text{Gramos de muestra}}{\text{Mililitros del solvente}} \times \frac{\text{volumen de alícuota}}{\text{volumen final}}$$

Ejemplo:

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 o volumen muestra

6.6.2 Concentración

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

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

$$\% R = \frac{\text{Concentración de Plaguicida en muestra x 100}}{\text{Concentración teórica de plaguicida en muestra}}$$

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

7. CONTROL DE CAMBIOS

Item	Página	Cambios

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Laura Lorena Lezcano
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 archivos	Jefe/Técnicos	5 años	Digitalización
Cuaderno de Laboratorio LRCV	FOR-DLQ-040	Sala de Estándar	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 Equipos	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.

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE