DETERMINACION DE MULTIRESIDUOS EN HOJAS COMESTIBLES Y NO COMESTIBLES POR QUECHERS Y 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 el procedimiento para determinar residuos de plaguicidas en hojas comestibles y no comestibles mediante extracción QuEChERS y análisis por LC-MS/MS.

2. ALCANCE

Aplica al análisis de hojas y vegetales de bajo contenido de agua procesados en el laboratorio. El método abarca su extracción, limpieza, preparación y detección instrumental de multiresiduos, 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 (Documento SANTE Nº / 12682/2019)

4. SIGLAS

4.1. Siglas:

4.1.1 g/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: Cromatografía Líquida.

4.1.4 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 ultrasonico

d) Balanza analítica

e) Balanza granataria

f) Centrifuga

g) Agitador de tubos

h) Robo coup

6.2. Materiales:

a) Espátula de metal

b) Matraz de vidrio con tapa de 25 mL

c) Matraces vidrio con tapa de 50 mL

d) Matraces vidrio con tapa de 100mL

e) Probeta de vidrio de 25 mL

f) Pipeta automática de 100µl-1000µl

g) Vasos de precipitado 100 mL

h) Tubos de plástico de 50 ml

Msc. Leyla Sofía Díaz
Lic. Química - R.P.Nº 497
Ing. Agrónoma - R.P.Nº 8.544

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Laura Lorena Lezcano

i) Viales de vidrio con tapa de 2 mL

6.3. Reactivos:

a) Material de Referencia Certificado

b) Metanol Grado HPLC

c) Acido acetico p.a

d) Acetonitrilo Grado HPLC

e) Agua desionizada

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 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 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

6.4.3 Preparación de las muestras a ser ensayadas:

a) Las muestras no se lavan para su procesamiento.

b) Procesar uniformemente las muestras con el robo coup.

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

6.4.4 Extracción

a) Homogeneizar la muestra.

b) Pesar 5 g de producto homogeneizado en un tubo de 50 mL limpio plano, añadir 10 ml de agua y dejar reposar 10 minutos

c) Añadir 15 mL de ácido acético al 1% en acetonitrilo (v / v) y una cantidad apropiada de una solución de patrón interno (si es utilizado).

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

e) Agitar en Vórtex o a mano durante 1 minuto.

6.4.5 Separación de Fases

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

6.4.6 Limpieza de la muestra con DSPE

a) Tomar 1 ml del extracto y colocar en un tubo de 2 ml de clean up con el relleno correspondiente a cada matriz

b) Agitar a mano durante 1 minuto o en Vortex

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

d) Tomar 1000 µl de la solución centrifugada, filtrar con filtro PTFE 0,2 µm en un vial de 2 mL e inyectar en el LC/MS/MS.

6.4.7 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.

6.4.8 Condiciones cromatográficas:

a. Cromatógrafo Líquido LC- MS/MS

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

Temperatura de columna: 40 ° C.

Flujo: 0,2 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

Gradiente: la solución tanto A como B según la pendiente de concentración mencionada en la siguiente tabla:

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

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

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

Lic. Olga Pavón
SENAVE

b. Cálculos:

Concentración de la muestra (C_{mtra})

(C_{mtra}): Gramos de muestra x volumen de alícuota

Mililitros del solvente volumen final

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 en mg

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

Concentración del Plaguicida 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	Jefe/Técnicos	5 años	Eliminación
Preparación de Soluciones	FOR-DLQ-013	Sala de archivos	Jefe/Técnicos	5 años	Eliminación
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
Historial de ensayos	FOR-DLQ-021	Silab	Técnicos	5 años	Eliminación

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

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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.

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

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE