DETERMINACION DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN CHIA 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:** 01/10/26	**Firma:** **Fecha:** 02/10/26	**Firma:** **Fecha:** 05/10/26

mecip 2015

1. OBJETIVO

Establecer el procedimiento analítico para determinar residuos de plaguicidas en muestras de chía mediante el método QuEChERS y su cuantificación por LC-MS/MS.

2. ALCANCE

Este método aplica al análisis de muestras de chía procesadas en el laboratorio para la detección de residuos de plaguicidas, abarcando la preparación de muestras, extracción, limpieza, análisis hasta la emisión del resultado.

3. DOCUMENTO DE REFERENCIA

3.1 EN15662/ Quechers Methodology

3.2 Analysis of PAHs in soil with Quechers AOAC

3.3 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.

4.1.4 SCTD: Citrato tribásico de sodio dihidratado.

4.1.5 SCDS: Citrato Dibásico de sodio Sesquihidratado.

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) 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) Micropipeta 100 µl a 1000µl

g) Vasos de precipitado 100 ml

h) Viales de vidrio con tapa de 2 ml

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

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

i) Filtro minisart 0,2 µm

6.3. Reactivos:

a) Material de referencia certificado

b) Acetona grado HPLC

c) Acetona p.a

d) Acetonitrilo grado HPLC

e) Acido acético 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 a partir de la solución madre 1000mg/L tomando un volumen adecuado para obtener una concentración de 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:

a. Procesamiento

Las muestras no se lavan para su procesamiento. Triturar y homogeneizar las muestras hasta obtener una matriz uniforme.

b. Extracción

Pesar 5g de muestra homogeneizada en un tubo de centrífuga de 50 ml.

Agregar 15 ml de acetonitrilo acidificado con ácido acético al 1%, agitar en el vórtex durante 30 min.

Añadir 10 ml de agua, agitar en el vórtex durante 1 min.

Agregar el kit de sales de extracción:

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

Lic. Olga Pavón
SENAVE

MSC. Leyla Soffa Díaz
Lic. Química - R.P.N° 497
Ing. Agrónoma- R.P.N° 8.544

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

mecip 2015

4.0 g de MgSO4

1.0g de NaCl

1.0g de Citrato tribásico de sodio dihidratado (SCTD)

0.5g de Citrato Dibásico de sodio Sesquihidratado (SCDS)

Agitar en el vórtex durante 1 min.

c. Separación de Fases

Centrifugar durante 5 minutos a 2800 rpm para separar el material sólido.

d. Limpieza de la muestra

Tomar 1 ml del extracto y colocar en un tubo de 2 ml de Clean up con relleno de 150mg MgSO4, 50mg PSA 50 mg de C18E.

Agitar vigorosamente por 1 minuto.

Centrifugar durante 5 minutos a 5500 rpm para separar el material sólido.

Filtrar con filtro de 0,22µm 1ml de muestra en un vial de 2 ml y se inyecta en el LC/MS/MS.

6.4.3 Preparación de muestras fortificadas

Adicionar un volumen exacto de la solución de trabajo sobre la matriz exenta de analitos (blanco). Inmediatamente después, homogeneizar de forma enérgica mediante agitación manual del tubo para asegurar la correcta distribución del estándar. Dejar reposar el extracto durante unos minutos a temperatura ambiente para permitir la interacción del analito con la matriz antes de iniciar el proceso de extracción descrito en el apartado anterior.

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: 0,5 ml/min.

d) Fase Móvil A: Solución acuosa de acetato de amonio 5 mmol/L acidificado con 0,1% de ácido fórmico.

e) Fase Móvil B: Solución de acetato de amonio 5 mmol/L en acetonitrilo: metanol (1:1) acidificado con 0,1% de ácido fórmico.

f) 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	99	1
0,5	99	1
3,5	60	40
12,5	15	85
12,6	1	99
15	1	99
15,10	99	1
19	99	1

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

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

6.6 Cálculos

a. Solución acuosa de acetato de amonio 5 mmol/L acidificado con 0,1% de ácido fórmico. (solución A de la fase móvil)

En un matraz aforado de 1 L, agregar aproximadamente 800 mL de agua ultrapura y añadir 1 ml de solución de acetato de amonio 5 mol/L (38,5 g/100 ml) (conservada en refrigeración) junto con 1 ml de ácido fórmico. Completar el volumen hasta obtener 1L de la solución (conservarla en refrigeración y el plazo de uso es de 1 semana).

b. Solución de acetato de amonio 5 mmol/L en acetonitrilo: metanol (1:1) acidificado con 0,1% de ácido fórmico. (solución B de la fase móvil)

En un matraz aforado de 1 L, adicionar 500 mL de acetonitrilo, 1 ml de solución de acetato de amonio 5mol/L (38,5 g/100 ml) (conservada en refrigeración) y 1 mL de ácido fórmico. Completar el volumen con metanol hasta obtener 1L de la solución (conservarla en refrigeración y el plazo de uso es de 1 semana).

c. Fortificación:

$C_1 . V_1 = C_2 . V_2$

$$V_1 = \frac{C_2 . V_2}{C_1}$$

Donde:

C_1: Concentración de la solución de trabajo o mix estándar

V_1: Volumen de la solución estándar a adicionar para la fortificación

C_2: Concentración final deseada en la muestra fortificada

V_2: Peso de la muestra

d. Concentración del Plaguicida en la muestra

$$C_{muestra}\ (mg/kg) = \frac{C_{extracto} \times V_{extracto} \times FD}{m_{muestra}}$$

Concentración del extracto ($C_{extracto}$): Corresponde a la concentración del analito obtenida mediante la curva de calibración del sistema LC-MS/MS y es reportada por el software de adquisición y procesamiento de datos en unidades de mg/L.

e. Porcentaje de Recuperación

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

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

6.7 CONTROL DE CAMBIOS

Item	Página	Cambios

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

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

mecip 2015

6. 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

7. 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

mecip 2015