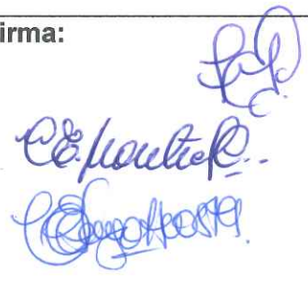
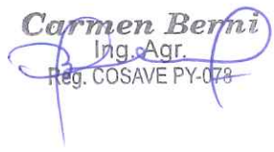
DETERMINACIÓN DE INGREDIENTES ACTIVOS POR UPLC O GC

ELABORADO POR	VERIFICADO POR	APROBADO POR
Nombre y Apellido: Lic. Carmen Lugo Lic. Claudia Montiel Lic. Leyla Díaz	**Nombre y Apellido:** Lic. Olga Pavón	**Nombre y Apellido:** Ing. Agr. Carmen Berni
Cargo: Técnica Analista Jefa de DLQ	**Cargo:** Directora de Laboratorios	**Cargo:** Directora General Técnica
Firma:  **Fecha:** 01/10/2026	**Firma:**  **Fecha:** 02/10/2026	**Firma:**  **Fecha:** 05/10/2026

1. OBJETIVO

Describir los pasos para la identificación y cuantificación de ingredientes activos en productos formulados y grado técnico, a fin de asegurar la aplicación uniforme del método de ensayo y la confiabilidad de los resultados.

2. ALCANCE

Este método aplica a la identificación y cuantificación de ingredientes activos en productos fitosanitarios formulados y grado técnico por cromatografía líquida o cromatografía gaseosa, realizado en el Laboratorio de Control de Calidad de Productos Fitosanitarios.

3. DOCUMENTO DE REFERENCIA

CIPAC Handbook K. Análisis y técnicas de formulaciones de pesticidas.

Finalidades, aplicabilidad y requisitos de la cláusula FAO 2004

4. SIGLAS

4.1. DLQ: Departamento de Laboratorios Químicos.

4.2. GC: Cromatografía gaseosa

4.3. i.a: Ingrediente activo.

4.4. LCCPF: Laboratorio de Control de Calidad en Productos Fitosanitarios.

4.5. UPLC: Ultra Perfomance Liquid Chromatography (Cromatografía Líquida de alta resolución).

5. RESPONSABLES

El jefe del DLQ es responsable de asegurar la implementación y el cumplimiento del presente documento. El personal técnico es responsable de ejecutar el ensayo de acuerdo con las instrucciones establecidas y de registrar los resultados obtenidos.

6. ACTIVIDADES

Los equipos, materiales y reactivos se detallan de manera general para los ingredientes activos que serán determinados, los cuales pueden sufrir modificaciones dependiendo de la metodología a ser desarrollada.

6.1. Equipos:

a. Cromatografo líquido
b. Cromatógrafo gaseoso
c. Balanza analítica
d. Baño sonicador
e. Bomba de vacío
f. Desionizador de Osmosis
g. pHmetro

6.2. Materiales:

a. Matraces de 100 mL ó 50mL ó 25 mL.
b. Viales de 2mL.
c. Espátula.
d. Kitasato de 1000mL.

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

Ing. Agr. Claudia E. Montial C.
Mat. Profesional Nº 8362

Lic. Claudia Montiel
SENAVE

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

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

mecip 2015

e. Probeta de 1000mL.

f. Columna C18 ó C8 ó SAX ó Quiral.

g. Membrana de celulosa 0,22 ó 0,45 µm.

h. Membrana de celulosa ó de Nylon de 0,45 µm x 47 mm o de acuerdo a la disponibilidad toda vez que se ajuste a la metodología a ser aplicada.

6.3. Reactivos:

a. Agua desionizada.

b. Estándar primario y/o secundario.

c. Ácidos si corresponde.

d. Sales si corresponde.

e. Solventes orgánicos grado HPLC, de acuerdo a la metodología a ser aplicada.

f. Material de referencia certificado

6.4. Desarrollo del Ensayo

6.4.1. Determinación de la densidad de la muestra:

Colocar en el picnómetro limpio, seco y previamente tarado, la cantidad de agua desionizada necesaria hasta alcanzar la marca del mismo cuidando que no formen burbujas. Tapar y colocar el termómetro (el agua debe estar a 20ºC). Secar por fuera con papel tissue y pesar en la balanza analítica. Realizar el mismo procedimiento para la muestra. Aplicar la siguiente fórmula para obtener la densidad en g/mL. Los registros generados se encuentran en el FOR-DLQ-016 Protocolo de Trabajo LCCPF, para obtener el valor de la densidad se utiliza la fórmula:

$$\text{Densidad} = \frac{(\text{PicMuestra} - \text{Picvacio})}{(\text{PicH2O} - \text{Picvacio})}$$

Donde:

Pic Muestra: peso del picnómetro con la muestra

Picvacío: peso del picnómetro vacío

Pic H2O: peso del picnómetro con agua

6.4.2. Preparación de la fase móvil:

Las preparaciones de fases móviles sólo serán aplicadas para aquellos i.a. que se determinan por cromatografía líquida. Las proporciones y mezclas dependerán de la metodología analítica de acuerdo al ingrediente activo a determinar. Filtrar con filtro de Celulosa ó Nylon de 0,45 µm de porosidad según corresponda y colocarla en la bomba del equipo UPLC.

6.4.3. Preparación de la solución estándar:

Pesar con una precisión de ±1 mg del estándar primario y/o secundario o material de referencia certificado en un matraz de 100 mL ó 50 mL ó 25 mL según corresponda, agregar hasta ¾ parte del volumen la solución diluyente y luego colocar en el Sonicador por espacio de 15 min; los registros generados se encuentran en el FOR-LCCPF-016 Protocolo de Trabajo LCCPF. Dejar reposar para llegar a temperatura ambiente y enrasar a volumen con el diluyente correspondiente. Filtrar con filtro celulosa ó Nylon de 0,22 ó 0,45 µm y colocar en un vial. Realizar los cálculos de concentración en mg/ml. Inyectar en el UPLC ó GC.

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

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Carmen Lug
SENAVE

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

Ing. Agr. Claudia E. Montiel C.
Mat. Profesional N° 8362

Lic. Claudia Montiel
SENAVE

mecip 2015

6.4.4. Preparación de la solución de la muestra:

Pesar y procesar la muestra de manera similar a la indicada para el estándar, teniendo en cuenta que la concentración final del ingrediente activo en la muestra debe ser igual o aproximado a la concentración de la solución estándar. Filtrar con filtro celulosa ó Nylon de 0,22 ó 0,45 µm y colocar en un vial. Realizar los cálculos de concentración en mg/ml. Inyectar en el UPLC ó GC.

Para determinar la cantidad de muestra a pesar se utiliza la fórmula:

$$\text{Peso Muestra} = \frac{\text{Conc std} / 1000}{\% \text{ mta} / 100}$$

Donde:

Conc std: concentración del estándar

% mta: porcentaje del principio activo en la muestra

6.5. Condiciones Cromatográficas:

Las condiciones cromatográficas se encuentran disponibles en el FOR-DLQ-034 Condiciones cromatograficas para determinación de ingredientes activos, donde se detallan los parámetros que deben ser utilizados para la determinación de cada i.a que será analizado, este formulario será actualizado constantemente debido a que existen ingredientes activos de moléculas nuevas que se van desarrollando.

Esquema de inyección: Tanto la solución estándar como de las muestras se inyectan por duplicado de manera a obtener una desviación relativa estándar (DRS%) menor a 2%.

Para las determinaciones por Cromatografía Gaseosa, adecuar los flujos de los gases, estabilizando el equipo por 30min. Ajustar el volumen de inyección y las temperaturas de la columna e inyección.

Si fuera necesario se ajustará el pH de la Fase móvil y/o solución diluyente de acuerdo a la metodología a ser aplicada.

6.6. Cálculos:

$$\%\ \text{Ingrediente Activo (p/p)} = \frac{Ar_{Mu} \times M_{St} \times P_{St}}{M_{Mu} \times Ar_{St}}$$

$$\%\ \text{Ingrediente activo (p/v)} = \frac{Ar_{Mu} \times M_{St} \times P_{St}}{M_{Mu} \times Ar_{St}} \times D_m$$

$$\%\ \text{Ingrediente Activo (p/p)} = \frac{Ar_{Mu} \times M_{St} \times P_{St}}{M_{Mu} \times Ar_{St}} xf$$

Ing. Agr. Claudia E. Montiel C.
Mat. Profesional Nº 8362
Lic. Claudia Montiel

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

mecip 2015

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

$$\%\ \text{Ingrediente activo (p/v)} = \frac{Ar_{Mu} \times M_{St} \times P_{St}}{M_{Mu} \times Ar_{St}} \times D_m \times f$$

A_{mta}: Promedio de las áreas del i.a activo en la muestra.
A_{St} : Promedio de las áreas del i.a en el estándar.
P_{St}: Pureza del estándar expresada en %p/p.
M_{St}: Masa de estándar en miligramos.
M_{mta}: Masa de muestra en miligramos.
D_m: Densidad de la muestra
f: Factor de conversión si corresponde

Notas:

a) Antes de iniciar los ensayos se verifica que las temperaturas de la sala de procesamiento de muestras y sala de cromatografía, sean las adecuadas, se estableció un rango de temperatura de trabajo de 10ºC - 30ºC y de humedad de 30%-80%. Los registros de estos controles se realizan en el FOR-DL-009 Control diario de Temperatura y humedad.
b) Para colocar la columna en el equipo UPLC, debe tenerse en cuenta la dirección del flujo de la fase móvil, la cual se encuentra indicada en la etiqueta de la columna.
c) La presión de las bombas en el equipo UPLC, no debe exceder de 15000Psi.
d) Las columnas utilizadas en los equipos UPLC siempre deben ser lavadas al término de cada ensayo con Metanol: Agua (90:10) por espacio aproximado de ½ hora.
e) Se realiza verificación intermedia del estado del equipo mediante la inyección de un material de referencia certificado o estándar primario con columna específica e identificada para tal efecto. La misma se registra en el FOR-DLQ-033 Planilla de verificación de equipos cromatográficos.

7. CONTROL DE CAMBIOS

Ítem	Página	Cambios
---	---	---

Ing. Agr. Claudia E. Montiel C
Mat. Profesional Nº 8362
Lic. Claudia Montiel
SENAVE

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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

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

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

8. DOCUMENTOS

Nombre del documento	Código	Área de archivo	Responsable	Tiempo de retención por dependencia	Disposición final
Protocolo de pesos de muestras analizadas	FOR-DLQ-053	LCCPF	Jefe y Técnicos	5 años	Digitalización
Protocolo de Trabajo LCCPF	FOR-DLQ-016	LCCPF	Jefe y Técnicos	5 años	Digitalización
Informe de resultado LCCPF	FOR-DLQ-018	LCCPF	Jefe y Técnico	5 años	Digitalización
Control diario de temperatura y humedad	FOR-DL-009	LCCPF	Jefe y Técnico	5 años	Digitalización
Planilla de verificación de equipos cromatográficos	FOR-DLQ-033	LCCPF	Jefe y Técnico	5 años	Digitalización
Condiciones cromatograficas para determinación de ingredientes activos	FOR-DLQ-034	LCCPF	Jefe y Técnico	5 años	Digitalización

9. APROBACIÓN DEL DOCUMENTO

APROBACIÓN POR LA DGT	
Nombre y Apellido	Carmen Berni Ing. Agr. Reg. COSAVE PY-078
Fecha	05/06/24
Vigencia	El presente documento será de aplicación a partir del día hábil siguiente a la fecha de su aprobación.

Lic. Carmen Lugo
SENAVE

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

Ing. Agr. Claudia E. Mon[illegible] C.
Mat. Profesional Nº 8362

Lic. Claudia Montiel
SENAVE

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

Lic. Olga Pavón
SENAVE