DETERMINACION DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN SUELO 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

1. OBJETIVO

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

2. ALCANCE

Este método aplica al análisis de muestras de suelo procesadas en el laboratorio para la detección de residuos de plaguicidas, abarcando desde la preparación de muestras, extracción, limpieza, análisis por LC-MS/MS hasta la emisión de los resultados.

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 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-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 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) Pipeta automática o micropipeta 100 a 1000µl

g) Vasos de precipitado 100 ml

h) Viales de vidrio con tapa de 2 ml

i) Tubos de plástico con tapa de 50 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

j) 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 acetico p.a

f) Metanol grado HPLC

g) Agua grado HPLC

h) Acetato de amonio p.a

i) Citrato tribásico de sodio dihidratado

j) Citrato Dibásico de sodio Sesquihidratado

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 muestras a ser ensayadas:

6.4.2.1 Extracción

a) Homogeneizar la muestra para generar una muestra representativa uniforme.

b) Pesar 5g de muestra homogeneizada en un tubo plano de 50 ml

c) Agregar 5ml de Agua, agitar 1 min en vortex

d) Añadir 10 ml de acetonitrilo acidificado con ácido acético al 1%

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE

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

e) Agregar la sal contenido en un paquete, que contiene:

4.0g de MgSO4

1.0g de NaCl

1.0g de Citrato tribásico de sodio dihidratado

0.5g de Citrato Dibásico de sodio Sesquihidratado

f) Agitar a mano durante 1 minuto o en vortex.

6.4.2.2 Separación de Fases

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

6.4.2.3 Limpieza de la muestra

a) 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.

b) Agitar manualmente por 1 minuto.

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

d) Filtrar con Filtro de 0,22µm 1ml de muestra verter en un vial de 2 ml y se inyecta en el LC/MS/MS

6.4.2 Preparación de muestras fortificadas:

Para fortificar las muestras se debe agregar una cantidad conocida de la Solución de trabajo, una vez agregado se homogeniza la muestra agitando manualmente el tubo que contiene la muestra fortificada, dejar reposar unos minutos y proceder 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

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

6.6 Cálculos:

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:

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 muestra

Concentracion Plag.en muestra] =Conc del Plaguicida en el vial xVol Mtra x Vol final x Fd
Volumen usado Peso de la muestra

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

Concentracion

Plag. En muestra] = Conc. del Plaguicida en el vial x 15ml x 1ml x 1
1ml x 5g

% 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	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

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

Lic. Laura Lorena Lezcano

Lic. Olga Pavón
SENAVE

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
Historial de ensayos	FOR-DLQ-021	SILAB	Técnicos	5 años	Eliminación

9. APROBACIÓN DEL DOCUMENTO

APROBACIÓN POR LA DGT	
Nombre y Apellido	Carmen Berni Ing. Agr. Reg. COSAVE PY-078
Fecha	05/10/20
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
-a. Agrónoma- R.P.N° 8.544

Lic. Olga Pavón
SENAVE

Lic. Laura Lorena Lezcano
SENAVE