

Universidad de San Carlos de Guatemala
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura

Informe Final
Práctica Profesional Supervisada



Presentado por:
María Mercedes Barenos Salazar

Para otorgarle el Título de
Técnico en Acuicultura

Guatemala, febrero de 2016

Universidad de San Carlos de Guatemala
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura

Informe Final
Práctica Profesional Supervisada



Soluciones Analíticas
Agricultura · Industria · Ambiente

Presentado por:
María Mercedes Barenos Salazar
Carne: 200614621

Para otorgarle el Título de
Técnico en Acuicultura

Guatemala, febrero de 2016

Universidad de San Carlos de Guatemala

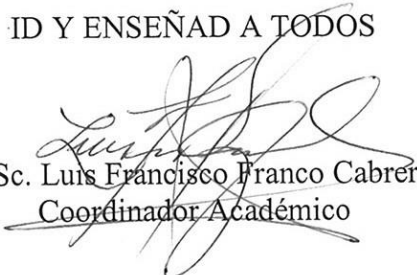
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura

Consejo Directivo

Presidente	M.Sc. Héctor Leonel Carrillo Ovalle
Secretario	M.B.A. Allan Franco de León
Representante Docente	M.A. Olga Marina Sánchez Cardona
Representante Docente	M.Sc. Erick Roderico Villagrán Colón
Representante del Colegio de Médicos Veterinarios v Zootecnistas	M.Sc. Adrián Mauricio Castro López
Representante Estudiantil	Lic. Francisco Emanuel Polanco Vásquez.
Representante Estudiantil	T.A. María José Mendoza Arzú

El Coordinador Académico del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura -CEMA-, después de conocer el dictamen del Profesor del curso M.Sc. Erick Roderico Villagrán Colón, al informe de la Práctica Profesional Supervisada, de la estudiante universitaria María Mercedes Barenos Salazar, titulado “Soluciones Analíticas Agricultura – Industria - Ambiente”, da por este medio su aprobación a dicho trabajo y autoriza su impresión.

ID Y ENSEÑAD A TODOS


M.Sc. Luis Francisco Franco Cabrera
Coordinador Académico



Guatemala, febrero 2016

ACTO QUE DEDICO

A DIOS:

Por el don de la vida, por estar conmigo en cada paso que doy y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía.

A MIS PADRES:

Por ser los pilares fundamentales de mi vida, por su amor y apoyo incondicional; y por ser mi ejemplo de personas de bien. Gracias por creer en mí.

A MIS HERMANOS:

Por su cariño y compañía; y por ser siempre mi ejemplo a seguir.

A MIS AMIGOS:

Por acompañame a lo largo de mi vida, por compartir conmigo en las alegrías y en las dificultades y por ser parte de la familia que la vida me regalo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala por ser mi casa de estudios y permitirme desarrollarme como profesional.

Al Centro de Estudios del Mar y Acuicultura y su Personal Docente por brindarme los conocimientos y las experiencias necesarias para alcanzar esta meta.

Al personal Técnico y Administrativo de Soluciones Analíticas por recibirme en su institución y compartir conmigo sus conocimientos y experiencias. Compartir el conocimiento que se ha adquirido a lo largo de los años es invaluable y por eso estoy infinitamente agradecida.

A los Técnicos de Laboratorio Brenda Álvarez, Evelyn González y Steven Marroquín por su apoyo y amistad durante el desarrollo de las prácticas.

RESUMEN

La Práctica Profesional Supervisada (PPS), se realizó en el Laboratorio de Ensayo Soluciones Analíticas acreditado (OGA-LE-031-09) bajo la norma ISO/IEC 17025. El laboratorio se subdivide en tres áreas (Agrícola, Ambiental y Microbiología) en donde se realizan análisis físicos y químicos de aguas, suelos y otras matrices como materias primas, bebidas y alimentos.

Durante la realización de la PPS se participó en las actividades propias de cada laboratorio enfocándose principalmente en el Laboratorio Ambiental y en el de Microbiología. En el laboratorio Agrícola se observó todo el proceso de preparación de muestras de aguas, suelos y plantas desde su ingreso hasta su análisis en el ICP (Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente). En el laboratorio Ambiental se participó en la determinación de varios parámetros en muestras de agua, siendo estos: DBO, DQO, Sólidos Sedimentables, Sólidos en Suspensión y Determinación de grasas en agua. En el laboratorio de Microbiología se participó en varios procesos entre estos preparación de medios y realización de análisis como: Procedimiento para la determinación de Coliformes totales y *E. coli* por el método de sustrato enzimático; Procedimiento de análisis microbiológico para la determinación del grupo Coliforme por la técnica de fermentación en tubos múltiples; Procedimiento para el conteo de bacterias aerobias en agua; Procedimiento para la determinación de Coliformes totales y fecales en aguas residuales y Determinación de la presencia de *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes* y Coliformes en alimentos y granos por el método de Inmuno ensayo. (Compact multiparametric immunoanalyzer mini VIDAS).

En el siguiente informe se incluye la información de las actividades realizadas durante la PPS, así como también la descripción de cada uno de los procedimientos de análisis aprendidos y las técnicas que deben realizarse para poder llevar a cabo cada uno de ellos.

INDICE DE CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCION	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos específicos	3
3. DESCRIPCION GENERAL DE LA UNIDAD DE PRACTICA	4
3.1 Ubicación geográfica	4
3.2 Condiciones climáticas	5
3.3 Actividades principales de la unidad de practica	5
3.4 Infraestructura	6
4. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS	7
4.1 Cantidad de personal	7
4.2 Calidades del personal	7
4.2.1 Visión	7
4.2.2 Misión	7
4.2.3 Valores	7
4.2.4 Política de Calidad	7
5. ACTIVIDADES REALIZADAS	8
5.1 Descripción de las actividades	8
5.1.1 Laboratorio Agrícola	8
5.1.2 Laboratorio Ambiental	10
5.1.2.1 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y Demanda Química de Oxígeno (DQO)	10
5.1.2.2 Sólidos Sedimentables	12
5.1.2.3 Sólidos en Suspensión	13
5.1.2.4 Determinación de Grasas en agua	14
5.1.3 Laboratorio de Microbiología	15
5.1.3.1 Elaboración de medios de cultivo	16
5.1.3.2 Procedimiento para la determinación de Coliformes totales Y <i>E. coli</i> por el método de sustrato enzimático	18

5.1.3.3 Procedimiento de análisis microbiológico para la determinación del grupo Coliforme por la técnica de fermentación en tubos múltiples	18
5.1.3.4 Procedimiento para el conteo de bacterias aerobias en agua	19
5.1.3.5 Procedimiento para la determinación de Coliformes fecales en aguas residuales	20
5.1.3.6 Determinación de la presencia de <i>Salmonella</i> sp., <i>Listeria monocytogenes</i> y Coliformes en alimentos y granos por el método de Inmuno ensayo. (Compact multiparametric immunoanalyzer mini VIDAS	20
5.2 Lecciones Aprendidas	21
6. CONCLUSIONES	23
7. BIBLIOGRAFIA	24

INDICE DE CUADROS

Cuadro No. 1	Medios de cultivo	Pág. 16
--------------	-------------------	------------

INDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura No. 1	Soluciones Analíticas, Guatemala, Guatemala	4
Figura No. 2	Ubicación geográfica de Soluciones Analíticas	4
Figura No. 3	Vías de acceso a la unidad de práctica	5
Figura No. 4	Preparación de muestras de agua	9
Figura No. 5	Muestras colocadas en digestor a 150°C	11
Figura No. 6	Método de Winckler azida para DBO ₅	12
Figura No. 7	Determinación de sólidos sedimentables por medio de conos de Imhoff	13
Figura No. 8	Filtrado de Sólidos en Suspensión	14
Figura No. 9	Determinación de grasas en agua	15
Figura No. 10	Análisis microbiológico para la determinación del grupo Coliforme por la técnica de fermentación en tubos múltiples ¹⁹	
Figura No. 11	Placa de PCA con colonias de bacterias aerobias	20
Figura No. 12	Inmunoanalizador multiparamétrico mini VIDAS	21

1. INTRODUCCION

La Práctica Profesional Supervisada se realizó en el Laboratorio de Ensayo Soluciones Analíticas, este laboratorio se especializa en la realización de análisis físicos y químicos de aguas, suelos y otras matrices como materias primas, bebidas y alimentos. Es un laboratorio acreditado bajo la norma ISO 17025 (OGA-LE-031-09), con la que garantiza la competencia y calidad de un laboratorio de primera categoría. Los análisis realizados en el laboratorio se subdividen en tres áreas: Laboratorio Agrícola, Laboratorio Ambiental y Laboratorio de Microbiología dependiendo de la naturaleza de las muestras y de los parámetros a analizar, en el periodo de práctica se pudo participar en los tres diferentes laboratorios realizando actividades propias de cada uno de ellos que se describen a continuación:

Laboratorio Agrícola: en este laboratorio se analizan muestras de suelos, aguas y plantas. Al recibir la muestra esta se prepara, si se trata de suelos o plantas estas llevan un proceso de lavado, secado y molido previamente a analizarlas. Posteriormente se preparan para ser analizadas en el ICP (Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente) en donde se evalúan diferentes compuestos principalmente metales. En este laboratorio se realizaron observaciones de todos los procesos por los que pasan las muestras hasta ser analizadas.

Laboratorio Ambiental: en este laboratorio se participó en la realización de análisis a muestras de agua, entre los que podemos mencionar: determinación de la demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y la Demanda Química de Oxígeno (DQO) por el método de Winkler, determinación de Sólidos Sedimentables, Sólidos en Suspensión y determinación de Grasas en agua.

Laboratorio de microbiología: en este laboratorio se tuvo participación en dos actividades principalmente, la primera de ellas fue la elaboración de medios de cultivo que se utilizan para los diferentes procedimientos y la segunda fue la determinación de diferentes análisis tales como: Procedimiento para la determinación de Coliformes totales y *E. coli* por el método de sustrato enzimático; Procedimiento de análisis microbiológico para la determinación del grupo

Coliforme por la técnica de fermentación en tubos múltiples; Procedimiento para el conteo de bacterias aerobias en agua; Procedimiento para la determinación de Coliformes totales y fecales en aguas residuales y Determinación de la presencia de *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes* y Coliformes en alimentos y granos por el método de Inmuno ensayo. (Compact multiparametric immunoanalyzer mini VIDAS).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Confrontar al estudiante con el ambiente de trabajo de la carrera de Técnico en Acuicultura, a través de una práctica directa, en un contexto institucional o empresarial.

2.2 Objetivos específicos

- 2.2.1 Proveer al estudiante la oportunidad de participar en actividades reales propias de la acuicultura, pesca y/o manejo de los recursos hidrobiológicos.
- 2.2.2 Retroalimentar el proceso de enseñanza-aprendizaje del estudiante, mediante la integración de los conocimientos y experiencias teórico-prácticas adquiridas.
- 2.2.3 Propiciar el desarrollo y ejercicio de los valores morales y éticos del estudiante en el desempeño profesional.

3. DESCRIPCION GENERAL DE LA UNIDAD DE PRACTICA

Soluciones Analíticas es un laboratorio que cuenta con un equipo de profesionales que brinda información analítica rápida, útil y confiable. El laboratorio está acreditado (OGA-LE-031-09) como laboratorio de ensayo bajo la norma ISO/IEC 17025. Cuenta con laboratorios agrícola, ambiental y microbiológico en donde se realizan análisis químicos, físicos y biológicos. (Soluciones Analíticas, 2016)



Figura No. 1 Soluciones Analíticas, Guatemala, Guatemala. (Soluciones Analíticas, 2016)

3.1 Ubicación Geográfica

El laboratorio se encuentra ubicado en la 14 Ave. 19-50 Condado El Naranjo Bodega 23, Ofibodegas San Sebastián, Zona 4 De Mixco, Guatemala.

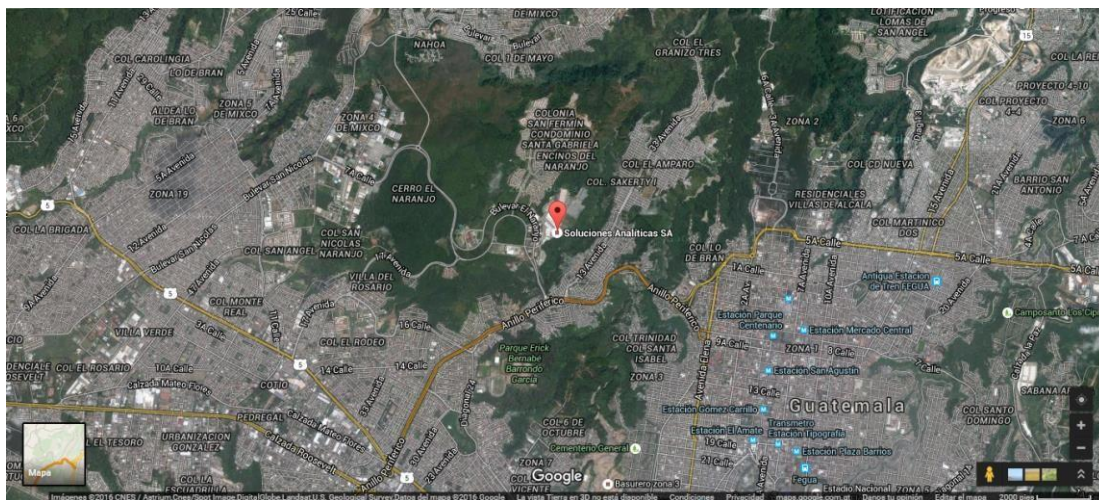


Figura No. 2 Ubicación geográfica de Soluciones Analíticas (Soluciones Analíticas, 2016)

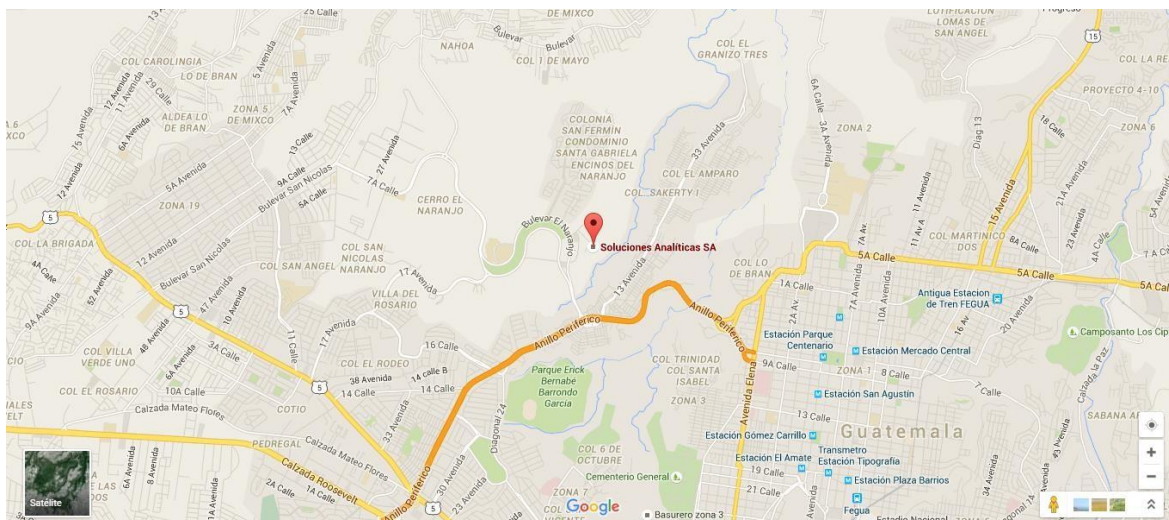


Figura No. 3 Vías de acceso a la unidad de práctica (Soluciones Analíticas, 2016)

3.2 Condiciones climáticas

La ciudad de Guatemala cuenta con un clima cálido y templado. En invierno hay mucho más lluvia que en verano. La temperatura media anual en Ciudad de Guatemala se encuentra alrededor de 19.4 °C, el mes más caluroso del año es mayo con un promedio de 20.7 °C. El mes más frío del año es febrero con una temperatura promedio de 17.7 °C. La precipitación promedio anual es de 1257 mm, siendo el mes más seco febrero, con una precipitación promedio de 2 mm mientras que el que cuenta con mayor precipitación es junio con 251 mm aproximadamente. (Data, 2016)

3.3 Actividades principales de la unidad de practica

Soluciones Analíticas es una empresa guatemalteca con más de 25 años de experiencia, brindando a la industria soluciones prácticas para optimizar sus sistemas productivos y mejorar el control de calidad en sus productos y procesos. El laboratorio realiza tanto para empresas como para personas particulares muestreos y análisis físicos y químicos de aguas, suelos y otras matrices como materias primas, bebidas y alimentos; cuenta con alianzas estratégicas con laboratorios internacionales para ampliar la gama de análisis en prácticamente cualquier matriz. También realiza asesorías en el ámbito agrícola y ambiental.

Cuenta con enmiendas agrícolas, en presentación de sacos de 50 Kg (108.7 lb) de Cal Dolomítica, Yeso y Mezcla, Cal Agrícola y Magnesita en diferentes proporciones para realizar correcciones de pH y toxicidad de aluminio en suelos, garantizamos el contenido de los

elementos mediante muestreos constantes tanto a la materia prima como a los productos acabados. Cuenta además con estaciones agrometeorológicas, estaciones para el monitoreo de la calidad del aire y estaciones para monitoreos hidrográficos; productos para biorremediar cuerpos de agua, eliminar grasas y aceites o eliminar hidrocarburos en aguas y suelos. (Soluciones Analíticas, 2016)

3.4 Infraestructura

Las instalaciones del laboratorio se dividen en dos áreas, el área de laboratorios y el área administrativa. El área de laboratorios se divide en:

- Zona de recepción de muestras
- Laboratorio de microbiología
- Laboratorio ambiental
- Laboratorio agrícola
- Laboratorio de fitopatología
- Área de preparación de muestras
- Área de hornos, muflas y autoclave
- Oficinas administrativas y de digitación
- Muestreo

Cada área cuenta con el equipo e insumos necesarios para la elaboración de análisis o actividades administrativas propias de cada una de estas.

El área administrativa se subdivide en:

- Departamento administrativo
- Departamento de servicios agrícolas
- Departamento servicios ambientales y microbiológicos
- Departamento de muestreo

El personal de estos departamentos se encarga de actividades administrativas propias de la empresa así como también de la atención al cliente y entrega de resultados.

4 ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

4.1 Cantidad de personal

El equipo de trabajo está conformado por más de 47 colaboradores entre los cuales se encuentran profesionales de diferentes áreas como: Químicos, Ingenieros Químicos, Ingenieros Ambientales, Licenciados en Acuicultura, Ingenieros Agrónomos y Técnicos de laboratorio. El personal técnico mantiene procesos de capacitación y refuerzos constantes con lo que están altamente calificados para realizar pruebas analíticas siguiendo las buenas prácticas de laboratorio.

4.2 Calidades del Personal

4.2.1 Visión: Guía, solución y apoyo para que nuestros clientes optimicen su productividad y calidad.

4.2.2 Misión: Somos un equipo de profesionales que brindamos:

- Innovaciones tecnológicas para la agricultura e industria.
- Servicios de consultoría y análisis químico, físico y microbiológico
- Equipos y productos para programas de gestión de calidad
- Apoyo para el desarrollo de programas de gestión ambiental

4.2.3 Valores: Los integrantes de Soluciones Analíticas comparten y proyectan a la comunidad, valores de Ética y Responsabilidad.

A través de la mejora continua, nuestros valores son la base para lograr una excelencia profesional apoyada en características claves que forman parte de nuestros colaboradores como lo son: preparación técnica y profesional, pro actividad, tenacidad, creatividad y detalle para la atención al cliente.

4.2.4 Política de Calidad: Personal comprometido en brindar información analítica rápida, útil y confiable. (Soluciones Analíticas, 2016)

5 ACTIVIDADES REALIZADAS

La Práctica Profesional Supervisada tuvo una duración de dos meses durante los cuales se participó en las actividades propias del laboratorio, dividiendo dicha participación en las tres áreas técnicas que conforman el mismo.

5.1 Descripción de las actividades realizadas

5.1.1 Laboratorio Agrícola

En esta área se realiza la preparación de muestras de aguas, suelos y plantas para su análisis en el ICP (Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente).

Todas las muestras que ingresan al laboratorio, independientemente del análisis al que vayan a ser sometidas son recibidas en el área de recepción en donde se les asigna una etiqueta que contiene un código que consta de un número correlativo que sirve para identificar cada muestra, así como también se agrega un código que indica que análisis deben realizarse. Posteriormente las muestras son recibidas por el personal técnico de cada laboratorio llevando un registro de los códigos de cada muestra y la cantidad de cada muestra que se recibe, esto permite la trazabilidad de cada una de las muestras.

En el laboratorio agrícola una vez que han sido recibidas las muestras se identifica si son muestras de agua, suelos o plantas. Las muestras de suelos son sometidas a un proceso de molienda, hasta obtener partículas homogéneas de un determinado tamaño, posteriormente ingresan a un horno donde se seca toda la humedad, mientras que las muestras de plantas pasan por un proceso de lavado con agua desmineralizada, luego de esto se secan en un horno para posteriormente ser molidas hasta obtener partículas homogéneas.

La preparación de las muestras se realiza en función del tipo de muestra que se considere (sólida o líquida). Para las muestras sólidas (plantas y suelos) es necesario la disolución de estas para lo que se utilizan ácidos fuertes para la digestión de la muestra.

La preparación de la muestra se realiza tomando 0.5g de esta que se colocan en una capsula de porcelana, a esta se añaden 5 ml de H_2SO_4 y se agita. Posteriormente se añaden poco a poco 5 ml de H_2O_2 al 30%. Después de esto la placa se calienta y se añaden 2 ml de HNO_3 . Luego de esto se calienta hasta eliminar el ácido nítrico. Para finalizar se realizan varios lavados de las capsulas con agua destilada ingresando el producto en balones de 50 ml que se aforan con agua destilada. Luego de esta preparación la muestra se traslada al ICP.



Figura No. 4 Preparación de muestras de agua

La técnica Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente, es una variante de las técnicas de análisis por espectrometría de masas. Las ventajas principales de esta técnica radican en la alta precisión, bajos límites de detección y bajo coste económico, analizando la mayoría de los elementos presentes en la tabla periódica de manera simultánea. La técnica de ICP combina dos propiedades analíticas que la convierten en un potente instrumento en el campo del análisis de trazas multielemental. Por una parte obtiene una matriz libre de interferencias debido a la eficiencia de ionización del plasma de Ar y por otra parte presenta una alta relación señal-ruido característica en las técnicas de espectrometría de masas. El plasma de acoplamiento inductivo de argón es usado como una fuente muy eficaz de iones en su estado M^+ . El espectro de masas de esta fuente de iones es medido por medio de un espectrómetro de masas cuadrupolar. Esto es posible mediante una zona de interfase capaz de introducir los iones del plasma a través de un orificio (Cono) por medio de una unidad de

vacío diferencial y posteriormente dentro del filtro cuadrupolar de masa (Skimmer). A partir de esta técnica se realiza la evaluación de las muestras previamente preparadas, se realiza la programación de los elementos que se desea detectar en las muestras y el equipo realiza el análisis de todos los elementos que se programen de una forma simultánea en una sola corrida.

Después de obtener los resultados deseados estos se reportan por parte de los técnicos al departamento de digitación donde se elabora el reporte que será entregado al cliente.

5.1.2 Laboratorio Ambiental

En este laboratorio se analizan principalmente muestras de agua provenientes de diferentes fuentes como aguas de procesos en plantas de producción, plantas de tratamiento, pozos, aguas de riego, etc. con el fin de determinar si cuentan con las características aptas para los procedimientos en los que son utilizadas; durante el periodo de práctica se tuvo participación en los siguientes análisis: determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y la Demanda Química de Oxígeno (DQO) por el método de Winkler, determinación de Sólidos Sedimentables, Sólidos en Suspensión y determinación de Grasas en agua.

5.1.2.1 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y Demanda Química de Oxígeno (DQO):

La Demanda Química de Oxígeno (DQO) se define como la cantidad de un oxidante específico que reacciona con una muestra bajo condiciones controladas. La cantidad de oxidante consumida se expresa en términos de su equivalencia en oxígeno: mgO_2/L . El método colorimétrico se basa en la oxidación de la materia orgánica por medio de un oxidante fuerte como el dicromato, el cromo Cr^{+6} de color naranja presente en la solución de análisis se reduce a Cr^{+3} de color verde, la reducción del cromo depende directamente de su reacción con la materia orgánica total existente en la muestra, lo que permite cuantificar la materia orgánica presente en la muestra por medio del método colorimétrico que mide la Absorbancia del Cr^{+3} a 600nm. (Leon, 2009)

Metodología: Después de recibir la muestra previamente etiquetada con el código de la muestra y el tipo de análisis a realizar esta se licua con el fin de homogeneizarla, luego de esto se agregan 2ml de la muestra en un tubo de reactivo de rango alto o bajo a partir del color y

olor que presente, las muestras claras y sin olor corresponden a rango bajo y las muestras turbias a rango alto; los tubos preparados se colocan en el digestor durante dos horas a una temperatura de 150°C, posteriormente las muestras se enfrían hasta temperatura ambiente y se leen en el espectrofotómetro. El resultado que se obtiene de esta lectura es el que se reporta y corresponde a los mgO₂/L presentes en la muestra.



Figura No. 5 Muestras colocadas en digestor a 150°C

La Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) se define como la cantidad de oxígeno usado por los microorganismos no fotosintéticos para metabolizar los compuestos orgánicos degradables biológicamente. El método que se utiliza para determinar este valor se conoce como Método de Winckler para DBO₅. Los valores de este ensayo representan la cantidad de oxígeno en mg/L necesario para que los microorganismos estabilicen la materia orgánica por acción bioquímica aeróbica en una muestra de agua incubada por cinco días en la oscuridad.

Metodología: Después de obtener los valores de DQO estos se comparan con una tabla que indica la cantidad de muestra que se debe sembrar para el análisis de DBO, una vez obtenido este valor se añade el volumen indicado a una botella de Winkler que se afora con agua enriquecida con nutrientes (Buffer de fosfatos, NH₄Cl, Solución de CaCl₂, FeCl₃ y MgSO₄), esta se incuba por un periodo de cinco días a temperatura ambiente en la oscuridad. Después de transcurridos los cinco días las muestras se fijan con 1mL de Azida de Sodio, 1mL de

Sulfato de Manganeso, se mezcla, se agrega 1mL de H_2SO_4 , se agita nuevamente y se sirven 100mL de la muestra en un matraz Erlenmeyer. Después de esto se procede a titular con tiosulfato 0.025N y almidón como indicador, se anota cuanto volumen de tiosulfato se gastó y se realizan los cálculos correspondientes para reportar el valor de DBO en mg/L.



Figura No. 6 Método de Winckler azida para DBO_5 .

5.1.2.2 Sólidos Sedimentables:

El término Sólidos Sedimentables se refiere a la cantidad de material que sedimenta de una muestra en un período de tiempo. Pueden ser determinados y expresados en función de un volumen (mL/L).

Metodología: La muestra debe encontrarse a temperatura ambiente, esta se agita previamente por un periodo de un minuto con el fin de homogeneizarla. Luego de mezclar la muestra se llena el cono de Imhoff, evitando verter la muestra por las paredes del cono, hasta la marca de 1000mL, se deja sedimentar por 45 minutos. Luego de este tiempo se mueve suavemente raspando las paredes del cono con una varilla agitadora, se deja sedimentar 15 minutos más; al finalizar este tiempo se Anota el volumen de sólidos sedimentables que se observan y se reportan como mL/L.



Figura No. 7 Determinación de sólidos sedimentables por medio de conos de Imhoff

5.1.2.3 Sólidos en Suspensión:

Los Sólidos en suspensión incluyen al total de sólidos en el agua que pueden ser separados por filtración a través de un papel de filtro estandarizado. Incluyen los sólidos volátiles (materia orgánica), se expresan en mg/L.

Metodología: Antes de realizar el análisis deben prepararse los filtros que van a utilizarse, estos son filtros de microfibras a los que se les realiza un lavado filtrando al vacío 40mL de agua desmineralizada de un lado y 20mL de agua del otro lado, se secan en un horno a 105°C durante un periodo de una hora, se identifican con un número correlativo y se pesan anotando el peso de inicial de cada uno.

Para analizar la muestra se arma el equipo de filtración, este consiste en un embudo que se coloca en la boquilla de un kitasato que a su vez se conecta a una bomba de vacío. Se miden de 100 a 200 mL de la muestra para filtrar dependiendo de la apariencia de esta (muestras claras menor volumen, muestras turbias mayor volumen), luego de medir el volumen se procede a la filtración, una vez filtrada la muestra el filtro se seca por una hora a una temperatura de 105°C, después de este tiempo se ingresa a la desecadora por un periodo de una hora, después de transcurrido este tiempo se pesa el filtro y se anota el valor obtenido (el proceso de secado y pesado se realiza 3 veces); después de obtener 3 valores constantes se

reporta el valor pequeño, a este valor se le resta el peso inicial del filtro. Después de obtener este valor se realizan los cálculos correspondientes (resultado obtenido * 1,000,000/volumen de muestra filtrado) y el resultado que se reporta corresponde al porcentaje de sólidos en suspensión presentes en la muestra.



Figura No. 8 Filtrado de Sólidos en Suspensión

5.1.2.4 Determinación de Grasas en agua:

En esta metodología se determina la cantidad de grasas y aceites presentes en la muestra reportando la cantidad de mg/L presentes en esta.

Metodología: Antes de realizar el análisis deben prepararse capsulas de porcelana que son previamente lavadas, estas se secan en un horno a 105°C durante un periodo de una hora, se identifican con un numero correlativo y se pesan anotando el peso inicial de cada una.

Para el análisis se agregan 250mL de la muestra en una ampolla de decantación a la cual se agregan 25mL de hexano el cual funciona como disolvente separando las grasas del agua; se debe agitar la ampolla por un periodo de 10 minutos, posteriormente se da un periodo de espera de 10 minutos y luego se procede a la decantación recuperando el solvente que contiene las grasas en un Erlenmeyer, el volumen que se recupera se agrega nuevamente a la ampolla de decantación repitiendo este procedimiento tres veces. Después de haber recuperado únicamente el solvente a este se le agrega la cantidad necesaria de sulfato de sodio para remover la humedad y los floculos dejando únicamente las grasas. El líquido que se obtiene

donde están contenidas las grasas se filtra utilizando un filtro No. 40 y el material filtrado se coloca en una capsula de porcelana, esta se calienta hasta que se evapora todo el solvente dejando únicamente las grasas adheridas a la superficie de la capsula; luego de esto se procede a pesar la capsula anotando el valor que se registra y después se deja en la desecadora por un periodo de una hora, este procedimiento se realiza tres veces hasta obtener tres pesos constantes reportando el menor de ellos. Después de obtener este valor se realizan los cálculos correspondientes ($\text{peso obtenido} - \text{peso inicial} \times 10^6 / \text{volumen de la muestra}$) y el resultado que se reporta corresponde a la cantidad en mg/L de grasas presentes en la muestra.



Figura No. 9 Determinación de grasas en agua

5.1.3 Laboratorio de Microbiología

En este laboratorio se evalúan muestras de aguas, alimentos y granos principalmente para la determinación de presencia de grupos específicos de bacterias como: grupo coliformes (totales y fecales), *E. coli*, *Salmonella* sp. y *Listeria monocytogenes* a partir de diferentes métodos de ensayo dependiendo de la naturaleza de la muestra y de las bacterias que se desean identificar. Durante el periodo de práctica se participó tanto en la elaboración de medios que se utilizan para los análisis como en el análisis de muestras a partir de los métodos que se describen a continuación.

5.1.3.1 Elaboración de medios de cultivo:

Los medios de cultivo son sustancias alimenticias artificiales preparadas en el laboratorio que reúnen una serie de condiciones como son: nutrientes, factores de crecimiento, temperatura, grado de humedad, presión de oxígeno adecuado, grado correcto de acidez o alcalinidad; estos factores facilitan el crecimiento de los microorganismos y permiten determinar la cantidad de estos presentes en una muestra. La base de muchos medios de cultivo es una infusión de extractos de carne y peptona a la que se añaden otros ingredientes como el agar, que es un elemento solidificante, la gelatina, materiales de enriquecimiento como hidratos de carbono, suero, sangre completa, bilis, colorantes etc.

A continuación se presenta una tabla en la que se describen algunos de los medios utilizados, el análisis en el que se utilizan y las bacterias que se detectan en estos.

Cuadro No.1 Medios de cultivo

Nombre del medio	Análisis	Determinación	Preparación
PlateCount Agar (PCA)	Procedimiento para el conteo de bacterias aerobias en agua.	Bacterias aerobias en agua.	Para 1000mL de agua desmineralizada agregar 25.4g del medio. Autoclavear a 121 °C durante 15 minutos. Enfriar de 45 a 50 °C, verter en placas (10 a 12 mL en cada placa)
Caldo Lauril Sulfato Doble	Procedimiento de análisis microbiológico para la determinación del grupo Coliforme por la técnica de fermentación en tubos múltiples	de Prueba presuntiva del grupo coliforme.	Disolver 35.6g del polvo en 1 litro de agua desmineralizada. Servir 10mL en tubos de ensayo. Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121°C.

Caldo Verde Brillante (BVB)	Bilis	Procedimiento de análisis microbiológico para la determinación del grupo Coliforme por la técnica de fermentación en tubos múltiples	de Coliformes totales.	Disolver 80g del medio por litro de agua desmineralizada. Disolver y servir 10ml en tubos de ensayo con campana de Durham. Preparar además, el medio a doble concentración. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
Caldo EC		Procedimiento de análisis microbiológico para la determinación del grupo Coliforme por la técnica de fermentación en tubos múltiples	de Coliformes fecales	Disolver 37.4 g del medio en un litro de agua desmineralizada. Distribuir en tubos de ensayo que contengan campanitas de Durham. Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121°C.
Caldo Mug	EC	Procedimiento de análisis microbiológico para la determinación del grupo Coliforme por la técnica de fermentación en tubos múltiples	de <i>E. coli</i>	Disolver 37g del medio en un litro de agua desmineralizada. Distribuir 10mL del medio en tubos de ensayo. Esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.
Caldo LMX		Procedimiento de determinación de Coliformes fecales en aguas residuales	para la Coliformes fecales	Disolver 17g de medio en un litro de agua desmineralizada, servir 10 ml de medio en tubos de ensayo. Esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.

Fuente: Trabajo de campo, 2016

5.1.3.2 Procedimiento para la determinación de Coliformes totales y *E. coli* por el método de sustrato enzimático:

Para la siembra de estas muestras previamente se esteriliza el área de trabajo con alcohol al 70%, luego de esto se agregan 100mL de la muestra a un recipiente estéril, se agrega el sustrato y se agita vigorosamente hasta que el sustrato este completamente disuelto. Posteriormente la muestra se vierte dentro de la bandeja extrayendo todas las burbujas de aire. Después de esto la bandeja se introduce en el sellador que dispensará la muestra dentro de las celdas y sellará la bandeja, esta se incuba a 35.0°C por un periodo de 24 horas. El valor del número más probable (NMP) es obtenido contando los pozos positivos (para coliformes totales coloración amarilla y para *E.coli* presencia de fluorescencia) el número de pozos positivos se compara con una tabla de referencia proporcionada por el fabricante estableciendo así el NMP de coliformes totales y *E. coli* en la muestra.

5.1.3.3 Procedimiento de análisis microbiológico para la determinación del grupo Coliforme por la técnica de fermentación en tubos múltiples:

Previamente a la siembra se esteriliza el área de trabajo con alcohol al 70%. Como parte inicial del análisis se realiza la prueba presuntiva para el grupo coliformes sembrando 10ml de la muestra en 10 tubos de ensayo que contienen 10ml del medio Lauril Sulfato Doble, estos se incuban a una temperatura de 35.0°C por un periodo de 48 horas; para la lectura de las muestras se identifican como positivas las que presenten turbidez o burbuja de gas en la campana de Durham. Si las muestras resultan positivas se procede a realizar las pruebas confirmatorias en los medios Bilis Verde Brillante, EC y EC Mug para determinar la presencia de coliformes totales, fecales y *E. coli* respectivamente; para esto se toma una azada del medio Lauril Sulfato Doble positivo y se introduce dentro del medio BVB, luego en el EC y por último en el EC Mug. Después de esto las muestras de BVB se incuban a una temperatura de 35.0°C durante un periodo de 48horas, después de este tiempo se realiza la lectura considerando positivas a las muestras que presenten turbidez o gas en la campana de Durham, se contabilizan las muestras positivas y se comparan con una tabla para determinar el NMP de coliformes totales presentes en la muestra. Las muestras sembradas en los medios EC y EC Mug se incuban a una temperatura de 44°C por un periodo de 24horas, para la lectura se consideran positivas en el medio EC las muestras que presenten turbidez o presencia de gas en

la campana de Durham y para las muestras sembradas en el medio EC Mug se consideran positivas para *E.coli* las muestras que presenten fluorescencia. El número de tubos positivos se compara con una tabla y así se obtiene el NMP de coliformes fecales y *E. coli* presentes en la muestra respectivamente.



Figura No. 10 Análisis microbiológico para la determinación del grupo Coliforme por la técnica de fermentación en tubos múltiples

5.1.3.4 Procedimiento para el conteo de bacterias aerobias en agua:

Previamente a la siembra se esteriliza el área con alcohol al 70%. Para la siembra se toma 1ml de la muestra y se introduce en un tubo de ensayo que contiene 9ml de agua peptonada realizando así una dilución 1:10 de la muestra. Luego de esto se toma 1ml de la dilución y se vierte en el centro de placas de Petri (se siembra por duplicado, dos placas por muestra), a esta se agrega de 10 a 12 ml del medio PCA que debe encontrarse a una temperatura de 45 a 50°C se agita 10 veces hacia cada lado en forma circular hasta homogeneizar la muestra dentro del medio, se dejan secar las placas y una vez secas se incuban a 35°C por un periodo de 48 horas. Para la lectura se realiza el recuento de colonias de cada caja, se obtiene un promedio de los dos resultados y se multiplica por 10 correspondiente a la dilución realizada al principio y así se obtiene el número de Unidades Formadoras de Colonia por mililitro de muestra (ufc/ml).

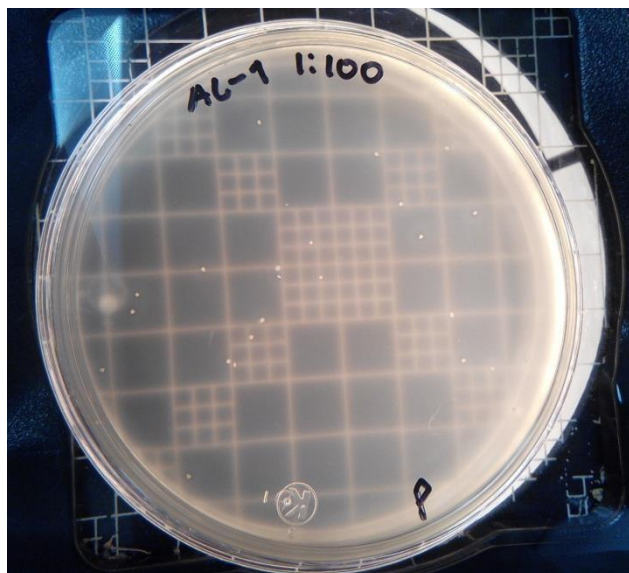


Figura No. 11 Placa de PCA con colonias de bacterias aerobias

5.1.3.5 Procedimiento para la determinación de Coliformes fecales en aguas residuales:

Previamente a la siembra se esteriliza el área con alcohol al 70%. Para cada muestra se siembra un total de 18 tubos realizando 6 diluciones (1:10, 1:1, 1:-1, 1:-2, 1:-3 y 1:-4), utilizando 3 tubos para cada dilución. La primera dilución (1:10) se realiza en el medio LMX/Doble agregando 10 ml de la muestra en cada tubo que contiene 10 ml de medio, a partir de esta dilución se realizan las siguientes agregando 1ml de muestra a los tubos que contienen 10ml del medio LMX/S. Las muestras se incuban a 44°C por un periodo de 24horas. Para la lectura se consideran positivos los tubos que presenten coloración azul o turbidez, los tubos positivos se contabilizan y se comparan con una tabla y así se obtiene el numero más probable de coliformes fecales en la muestra.

5.1.3.6 Determinación de la presencia de *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes* y Coliformes en alimentos y granos por el método de Inmuno ensayo. (Compact multiparametric immunoanalyzer mini VIDAS):

El Mini Vidas cuenta dos áreas de prueba independientes con 6 posiciones cada uno, capacidad de procesamiento de 12 pruebas a la vez, las pruebas de intercambio de protocolos similares se pueden ejecutar en una sección a la vez, la capacidad de llevar a cabo una o por lotes resultados de las pruebas en 20-60 minutos, cuenta con un ordenador integrado, pantalla, teclado y la impresora incorporada. La máquina también incorpora software de uso fácil y

requiere muy poco mantenimiento y calibración de hora. La prueba es también fácil con el uso de tiras reactivas, auto contenida, con todos los topes necesarios, conjugaciones, y diluyentes necesarios para completar el ensayo, y consecuencia directa de detección del antígeno se producen en 30-150 minutos.(Biomerieux, 2016)

En el laboratorio el equipo Mini Vidas se utiliza para la determinación de *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes* y Coliformes en alimentos y granos, para cada uno de estos análisis existe un kit específico que reporta la presencia o usencia de estas bacterias.



Figura No. 12 Inmunoanalizador multiparamétrico mini VIDAS

5.2 Lecciones Aprendidas

Durante la duración de la práctica se obtuvieron varios conocimientos técnicos en la elaboración de diversos análisis tanto del área ambiental como del área microbiológica que han sido descritos previamente, además de esto se obtuvieron conocimientos sobre lo importante que es mantener registros de todas las actividades realizadas así como también de los insumos que se utilizan, ya que esto permite tener una mayor trazabilidad de las muestras.

El uso adecuado de los equipos e instrumentos de laboratorio, así como de los reactivos y medios permite obtener resultados más confiables y que puedan ser reproducibles.

Tomando en cuenta que el laboratorio donde se realizaron las practicas es un laboratorio acreditado, se pudo comprender la importancia y los beneficios que representan las acreditaciones ya que estas constituyen un reconocimiento formal e indicador confiable de la competencia técnica del laboratorio para efectuar tipos específicos de análisis, asegurándole a los clientes que los resultados de los análisis y el servicio de inspección son correcto y confiables. Son una herramienta de mercadeo efectiva ya que varias industrias rutinariamente solicitan que sus proveedores de servicios analíticos y de inspección se encuentren acreditados. Las acreditaciones permiten también que el laboratorio y los resultados que presenta tengan reconocimiento internacional, el cual permite que los resultados sean más fácilmente aceptados en mercados extranjeros.

6 CONCLUSIONES

1. Las muestras que ingresan al laboratorio deben identificarse tanto con el código de la muestra como con el código de los análisis a realizar, estos códigos y registros permiten mantener un control de la muestra y así mejorar la trazabilidad de esta.
2. Para obtener un resultado confiable es necesario tener un manejo adecuado de los equipos, material de laboratorio, manejo de reactivos, precisión y exactitud al momento de realizar mediciones y cálculos y un conocimiento técnico de los análisis que se realizan.
3. Para obtener resultados veraces todas las muestras deben homogenizarse antes de ser trabajadas independientemente del análisis que vaya a realizarse.
4. Los análisis que se realizan a las muestras dependen de la naturaleza de estas y de las necesidades del cliente, debe contarse con el conocimiento técnico necesario para poder decidir que análisis realizar para obtener los mejores resultados.
5. Todos los análisis deben realizarse con responsabilidad y ética laboral para así poder entregar resultados veraces y confiables.

7 BIBLIOGRAFIA

1. Biomerieux. (2016). *Biomerieux-diagnostics*. [en línea]. Recuperado enero 10 2016, de <http://www.biomerieux-diagnostics.com/mini-vidas>
2. Data, C. (2016). *Climate Data.Org*. [en línea]. Recuperado enero 5 de 2016, de <http://es.climate-data.org/location/4692/>
3. Leon, C. (2009). *Estandarización y validación de una técnica para medición de la demanda bioquímica de oxígeno por el método respirométrico y la demanda química de oxígeno por el método colorimétrico*. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira.
4. Soluciones Analíticas. (2016). *Soluciones Analíticas*. [en línea]. Recuperado enero 5 2016, <http://www.solucionesanaliticas.com>