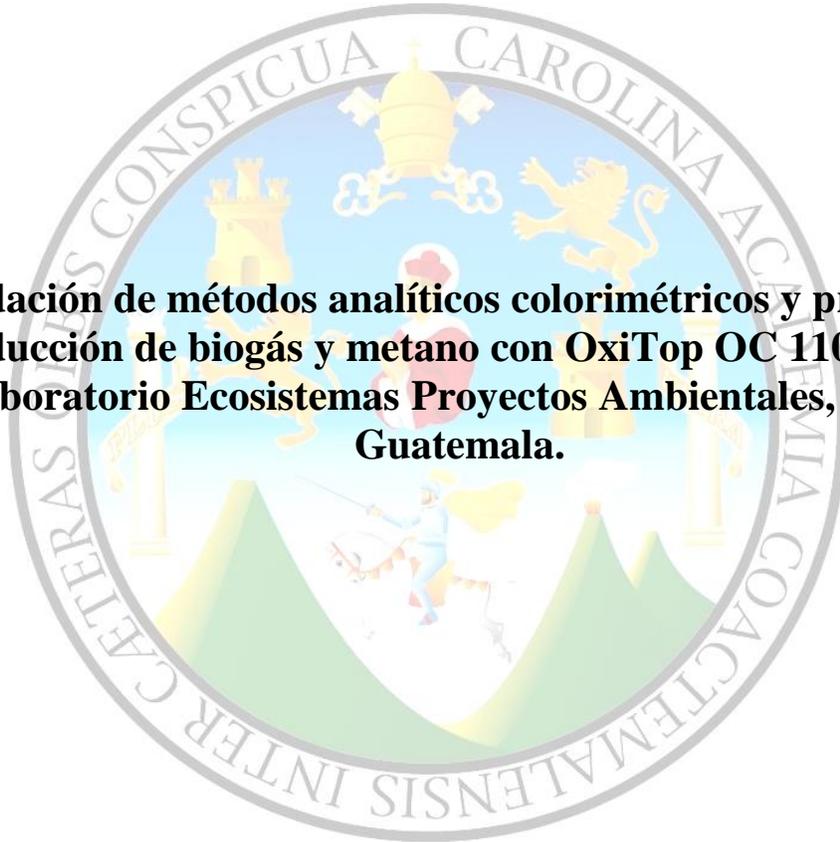


**Universidad de San Carlos de Guatemala
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura**

**Informe final
Práctica Profesional Supervisada**

**Validación de métodos analíticos colorimétricos y pruebas de
producción de biogás y metano con OxiTop OC 110, para el
Laboratorio Ecosistemas Proyectos Ambientales, Mixco,
Guatemala.**



**Presentado por:
Lucila María Rodríguez Méndez**

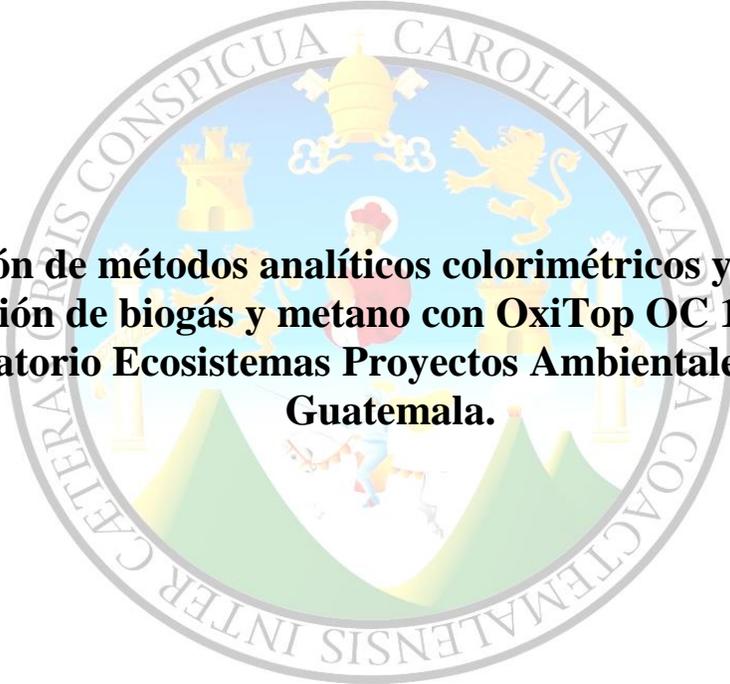
**Para otorgarle el Título de
Técnico en Acuicultura.**

Guatemala, febrero de 2016

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

**Informe final
Práctica Profesional Supervisada**

Validación de métodos analíticos colorimétricos y pruebas de producción de biogás y metano con OxiTop OC 110, para el Laboratorio Ecosistemas Proyectos Ambientales, Mixco, Guatemala.



**Presentado por:
Lucila María Rodríguez Méndez**

Carné No. 200610014

**Para otorgarle el Título de
Técnico en Acuicultura.**

Guatemala, febrero de 2016

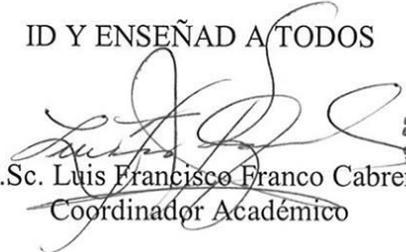
Universidad de San Carlos de Guatemala
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura

Consejo Directivo

Presidente	M.Sc. Héctor Leonel Carrillo Ovalle
Secretaria	M.A. Olga Marina Sánchez Cardona
Representante Docente	M.Sc. Erick Roderico Villagrán Colón
Representante del Colegio de Médicos Veterinarios y 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 Lucila María Rodríguez Méndez, titulado “Validación de métodos analíticos colorimétricos y pruebas de producción de biogás y metano con OxiTop OC 110, para el Laboratorio Ecosistemas Proyectos Ambientales, Mixco, Guatemala”, da por este medio su aprobación a dicho trabajo y autoriza su impresión.

ID Y ENSEÑAD A TODOS


M.Sc. Luis Francisco Franco Cabrer
Coordinador Académico



Guatemala, febrero 2016

ACTO QUE DEDICO

A **Dios** y a la **Virgen**, por el regalo de la vida y por darme una familia tan maravillosa.

A mis **Padres**; Heber Magdiel Rodríguez Álvarez por ser mi ángel que me guía desde el cielo; y Palmira Lisbet Méndez Quiñonez por su apoyo incondicional y su amor infinito, gracias por ser un ejemplo de fortaleza y perseverancia.

A mis **hermanos**, Heber Guillermo Rodríguez Méndez y Sergio José Rodríguez Méndez gracias por estar a mi lado, por creer en mí y por ser un ejemplo a seguir, gracias por su cariño y las risas que me han brindado durante mi vida.

A mi **novio**, Juan Carlos Recinos López por el apoyo incondicional que me ha brindado para continuar, por ayudarme a ser mejor persona, y sobre todo por su amor que me da fuerza.

A mi **familia**, primos, tíos, y sobrinos porque nunca dudaron que lograría este triunfo, por todas las alegrías vividas y por su presencia constante en todo momento, gracias por su apoyo.

A mis **amigos y amigas**; que son mi segunda familia, ustedes saben quiénes son, los llevo en mi corazón y nunca podré pagarle a la vida el privilegio de contar con su cariño, lealtad, apoyo y comprensión por las buenas, las malas y las peores situaciones que me ayudaron a sobrellevar. Gracias por todo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad de San Carlos de Guatemala por darme la oportunidad de ser mi casa estudio.

Al Centro de Estudios del Mar y Acuicultura por brindarme las herramientas para convertirme en un profesional tanto en campo como en laboratorio.

Al Laboratorio Ecosistemas Proyectos Ambientales por brindarme la oportunidad y las herramientas para realizar mis prácticas.

A la Ing. Silvia Argueta y al Ing. Fernando Fuentes por brindarme su conocimiento, experiencias y amistad.

Al personal del Laboratorio de Ecosistemas Proyectos Ambientales por su amistad en mi período de prácticas.

RESUMEN

La Práctica Profesional Supervisada –PPS- inició el día 5 de octubre del 2015 en el Laboratorio Ecosistemas Proyectos Ambientales. Es un laboratorio ambiental e industrial donde realizan análisis químicos acreditados con calidad ISO/IEC 17025 OGA-LE-006-04. Tienen el compromiso de brindar a los clientes servicios en el muestreo y análisis, por medio de métodos confiables, para que la información y resultados obtenidos sean de beneficio para las empresas y el cuidado del medio ambiente en general. Los servicios que ofrece Ecosistemas son: análisis de agua potable; análisis de aguas residuales, aguas industriales, aguas superficiales y subterráneas; análisis de suelos, sedimentos y lodos; análisis de alimentos (vegetales, frutas, harinas, carnes, concentrados para animales, néctares y otros); análisis de bisutería y cerámica, análisis de materia prima y producto terminado; análisis por cromatografía gaseosa; medición de caudal; toma de muestra; consultorías y asesorías profesionales. Ecosistemas siendo un laboratorio acreditado e innovador, busca que otros análisis sean acreditados. La validación de un método es un requisito importante en la práctica del análisis químico. En el laboratorio realice ocho pruebas para la validación de ocho analitos: amonio, nitratos, cloruros, cromo hexavalente, fosforo total, nitrógeno total, ortofosfatos y sulfatos.

El biogás ha adquirido importancia en los últimos años debido que se puede utilizar como una fuente de combustible, está compuesto de 75% de metano y 24% de dióxido de carbono, el resto son otros gases traza. El metano es el principal gas de interés, para su producción se utilizan desechos orgánicos, aguas ricas en nutrientes, estiércol, etc. Para separar el metano del biogás se introduce hidróxido de sodio y éste absorberá el dióxido de carbono, y así quedara solamente metano. En el laboratorio se realizaron pruebas con estiércol de vaca, aguas residuales y cascara de papa a distintas concentraciones; los principales objetivos eran probar el equipo de OxiTop OC 110 y observar con cual sustrato se producía una mayor cantidad de biogás y se hicieron también pruebas con hidróxido de sodio para observar cuanto metano se producía en comparación al biogás.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO	PAG
1. INTRODUCCION	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. OBJETIVO GENERAL	3
2.2. OBJETIVO ESPECIFICO	3
3. DESCRIPCION GENERAL DE LA UNIDAD DE PRÁCTICA	4
3.1. UBICACION GEOGRAFICA	4
3.2. ACTIVIDADES PRINCIPALES DE LA UNIDAD DE PRÁCTICA	6
3.3. INFRAESTRUCTURA	7
3.4. EQUIPO	9
4. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS	13
4.1. ORGANIGRAMA	13
4.2. CANTIDAD DEL PERSONAL	13
5. ACTIVIDADES REALIZADAS	14
5.1. DESCRIPCION DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS	14
5.2. RESULTADOS Y APRENDIZAJE ALCANZADOS	46
5.3. LECCIONES APRENDIDAS	48
6. CONCLUSIONES	49
7. RECOMENDACIONES	50
8. BIBLIOGRAFIA	51
9. ANEXOS	53

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PAG
1. Vía de acceso por la Calzada San Juan en Mixco, Guatemala	5
2. Vía de acceso por el Periférico	5
3. Uso de tecnología para algunos análisis que requieren precisión	6
4. Toma de Muestras en tuberías	7
5. Laboratorio de Ecosistemas	8
6. Equipos grandes: campanas de extracción y absorción atómica de metales pesados	9
7. Balanza analítica en área cerrada	11
8. Embudo de separación para líquido inmiscibles	11
9. Algunos instrumentos utilizados en Ecosistemas	12
10. Organigrama de Ecosistemas Proyectos Ambientales	13
11. Criterio para elegir la cola correcta	17
12. Esquema del proceso de validación para un método analítico	18
13. Curva para un comportamiento lineal	20
14. Curva de calibración	20
15. Pendientes para observar la sensibilidad	22
16. Explicación sobre la diferencia entre precisión y exactitud	24
17. Equipo certificado de HACH para análisis colorimétricos	28
18. Equipo certificado de Merck (NOVA 60) para análisis colorimétricos	28
19. De izquierda a derecha: cubeta 10, cubeta 20, y cubeta 50	29
20. Aforando para las concentraciones de Ortofosfatos	29
21. Análisis de Amonio	30
22. Análisis de Cloruros	30
23. Análisis del Cromo Hexavalente	31
24. Análisis de Fosforo Total	31
25. Kit de cajas para el análisis de Nitrógeno Total	32
26. Análisis de Ortofosfatos	33
27. Proceso de la metodología del proyecto de biogás	34
28. Botellas para producción de biogás	42

29. Control del OxiTop OC 110	43
30. Cabezal de Medición	43
31. Botellas finalizadas con el sustrato, listas la medición de metano	44
32. Elección, desarrollo y evaluación de métodos	53
33. Plan general de validación	53
34. Proceso de obtención de metano	54
35. Equipo de medición de biogás, OxiTop OC 110	54

1. INTRODUCCIÓN

La validación de un procedimiento analítico establece pruebas documentales que demuestran científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Para una validación se realizan pruebas a manera de: a) comprobar varios aspectos del comportamiento del método, y b) establece que sirve para el fin previsto. La validación implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no sólo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales.

En el laboratorio se realizaron siete métodos de validación, los cuales fueron: límite de detección, límite de cuantificación, exactitud (veracidad y precisión), intervalo o rango, sensibilidad, linealidad, y robustez. Estas pruebas se aplicaron para la validación de ocho análisis colorimétricos: amonio, cloruros, cromo hexavalente, fósforo total, nitratos, nitrógeno total, ortofosfatos y sulfatos. La validación consistió en hacer distintas concentraciones, dentro de un rango de trabajo, a partir de soluciones estándar. Se hicieron diez lecturas por cada concentración de cada analito. Al obtener los datos se ingresaron a una base de datos en Excel donde se realizaron los cálculos necesarios, según el método de validación a realizar, y en base a los resultados se sabía si aprobaba para ser acreditado o no. Debido a políticas de la empresa no es posible hacer público los resultados, pero cabe decir que todos los resultados fueron positivos para ser validados.

El biogás es un combustible incluido dentro del conjunto de la biomasa. Durante la digestión anaeróbica de la biomasa, mediante una serie de reacciones bioquímicas, se genera el biogás, el cual, está constituido principalmente por metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2). Este biogás puede ser capturado y ser usado como combustible. De esta forma, la digestión anaeróbica, como método de tratamiento de residuos, permite disminuir la cantidad de materia orgánica contaminante, estabilizándola (bioabonos) y al mismo tiempo, producir energía gaseosa (biogás). Para obtener solo metano, se agrega hidróxido de sodio (NaOH), este absorberá el dióxido de carbono dejando solamente el metano.

En el laboratorio de Ecosistemas se tiene un equipo para la medición de biogás y/o metano conocido como OxiTop OC 110. Uno de los objetivos principales era saber si el equipo funcionaba, observar que tanto afecta a la presión y a la producción de metano el hidróxido de sodio, y otro es saber cuál sustrato era el que más biogás producía. Se utilizaron residuos biológicos (cáscara de papa), aguas residuales y estiércol de vaca; los sustratos fueron elegidos en base a investigaciones científicas donde se comprobó que estos tres componentes son los que más cantidad de metano producen. Las concentraciones a utilizar se eligieron en base a una revisión bibliográfica, donde se recomienda que los volúmenes del sustrato no sean muy grandes, porque las pruebas indican que a una mayor cantidad de metano se necesita poco sustrato, a mayor sustrato hay menos espacio para el gas y la producción se hace más lenta.

La primera prueba para producción de metano se realizó con seis muestras, con doble muestra de cada sustrato, de manera que una tenía el NaOH y el otro no; esto para observar cambios de presión y cuanto volumen se producía de metano.

Los resultados no pueden ser públicos por políticas de la empresa, pero demostraron que agregar NaOH si hay cambios de presión y se produce una mayor cantidad de metano, al igual que agregar más sustrato se produce menos biogás.

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. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA UNIDAD DE PRÁCTICA

Ecosistemas se fundó en 1999, ocho años después se constituyó en Ecosistemas Proyectos Ambientales, S. A. y desde 2005 cuenta con certificado de acreditación como laboratorio de ensayo OGA-LE-006-04, siendo un referente en análisis ambientales e industriales. En 2014, como parte de la mejora continua, Ecosistemas inauguró sus nuevas instalaciones para brindar un mejor servicio en Guatemala y proyectarse a Centroamérica y el mundo.

Ecosistemas es una empresa comprometida a brindar a sus clientes servicios en el muestreo y análisis, por medio de métodos confiables, para que la información y resultados obtenidos sean de beneficio para las empresas y el cuidado del medio ambiente en general.

Ecosistemas tiene como misión el ser el laboratorio ambiental e industrial de mejor prestigio y confiabilidad, con la capacidad para incursionar en distintos campos técnicos para brindar una gama de análisis acreditados bajo la Norma ISO/IEC 17025, que sean una verdadera herramienta en la toma de decisiones para la industria y consultores. Su visión es ser el laboratorio de vanguardia en análisis industriales y ambientales, acreditados ISO/IEC 17025, que provea servicios integrales de calidad, mejora continua, innovación y respaldo a nuestros clientes.

3.1 Ubicación Geográfica

Ecosistemas se encuentra ubicado en la 17 avenida 2-39 zona cuatro de Mixco, Ofibodegas Zaragoza II, Bodega dos, Guatemala. Las coordenadas son: 14°37'22"N 90°31'53"O.

La vía de acceso puede ser por la Calzada San Juan, tomando la 11 calle y luego cruzar por la 24 calle, para luego salir por la 17 avenida y llegar a las Bodegas de Zaragoza que están pintadas de color verde. Si se viene desde el Trébol, se puede tomar toda la Calzada San Juan y luego cruzar por la 17 avenida y se llega directo a las Bodegas de Zaragoza.

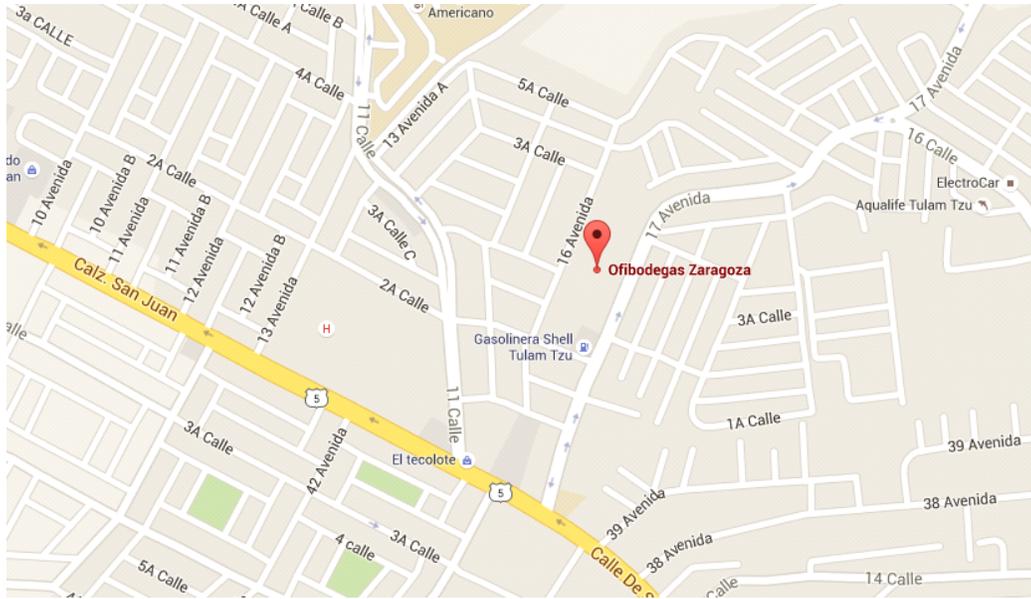


Fig. No. 1. Vía de acceso por la Calzada San Juan en Mixco, Guatemala (Google, 2015)

Otra vía de acceso es por el Periférico; si se viene por la zona 1 se debe tomar el carril auxiliar, lo que es Villa Linda y luego cruzar por la 16 calle hasta salir a la 17 avenida y llegar a las Bodegas de Zaragoza; si se viene por la Universidad de San Carlos se debe tomar todo el Periférico y luego cruzar por la Diagonal 24 y agarrar toda la 16 calle hasta salir por la 17 avenida.

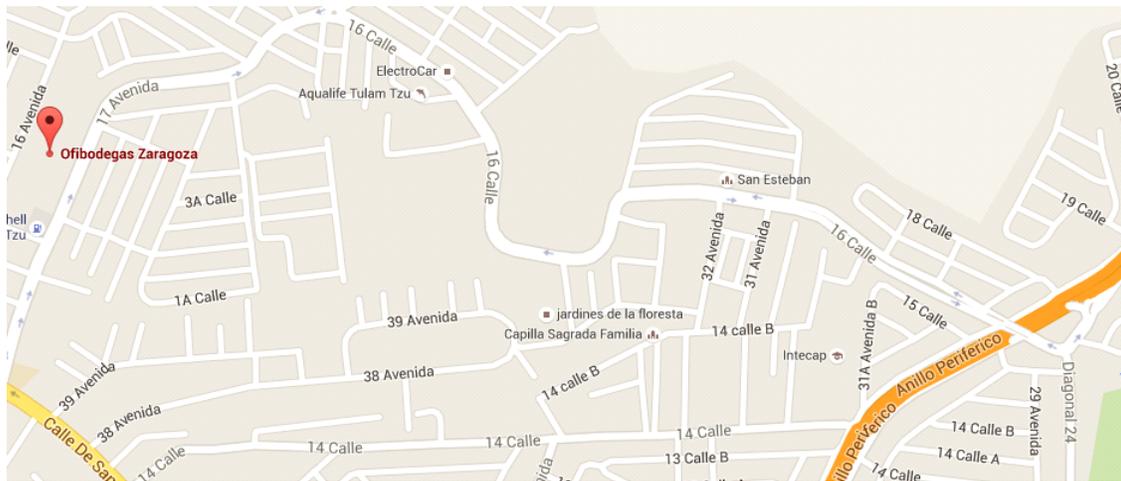


Fig. No. 2. Vía de acceso por el Periférico para llegar a Ecosistemas (Google, 2015)

3.2 Actividades Principales de la Unidad de Práctica

Las actividades que se realizan en Ecosistemas son: análisis de agua potable; análisis de aguas residuales, aguas industriales, aguas superficiales y subterráneas; análisis de suelos, sedimentos y lodos; análisis de alimentos (vegetales, frutas, harinas, carnes, concentrados para animales, néctares y otros); análisis de bisutería y cerámica; análisis de materia prima y producto terminado; análisis por cromatografía gaseosa. Estos se realizan en el área del laboratorio según sea el tipo de análisis que se quiera hacer.

Los técnicos están divididos por áreas de trabajo dentro del laboratorio. Aparte del laboratorio, en el segundo nivel, se realizan los informes a los clientes con los resultados obtenidos, los cuales son hechos por el Gerente de Calidad, y supervisados posteriormente por la Directora de la empresa.



Fig. No. 3 Uso de tecnología para algunos análisis que requieren precisión
(Ecosistemas, 2015)

Otra de las actividades que desempeña Ecosistemas son: la medición de caudal; toma de muestra; consultorías y asesorías profesionales. Estas se realizan afuera de la empresa, en los lugares donde los clientes desean que se analice la calidad del agua.



Fig. No. 4 Toma de Muestras en tuberías (Ecosistemas, 2015)

3.3 Infraestructura

Ecosistemas, siendo un laboratorio industrial y ambiental, cuenta con una infraestructura donde se garantiza la calidad de los resultados. “Un mal diseño puede causar resultados erróneos que pueden deberse a la contaminación de los materiales de ensayo (como el polvo) o la contaminación cruzada con otra muestra o con un patrón” (FAO, 2009). Para evitar este tipo de problemas Ecosistemas divide el laboratorio por áreas de trabajo, evitando así cualquier tipo de contaminación.

Las distintas áreas son: área de análisis de suelos, lodos, y/o aceites; área de cromatografía de gases; área de absorción atómica para metales pesados; área de microbiología; área de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y Demanda Química de Oxígeno (DQO); el área de análisis colorimétricos y pH; área donde se encuentra el horno y la mufla; área para pesar totalmente aislada del laboratorio; y él área de lavado de cristalería. Además cuenta con un refrigerador el cual se mantiene a una temperatura constante de 15°C, donde se almacenan las muestras que no están siendo analizadas.

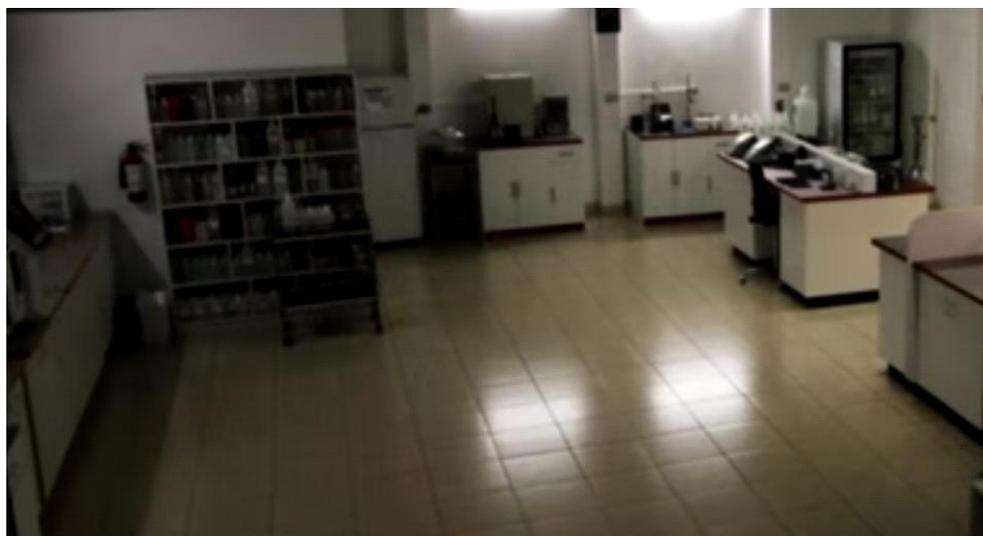


Fig. No. 5 Laboratorio de Ecosistemas (Ecosistemas, 2015)

Dentro del laboratorio se mantiene un aislamiento de todas las instalaciones donde se lava y limpia el equipo, se lava y almacena el instrumental de vidrio, además se utiliza ropa protectora (bata, zapatos de piel, lentes de protección, guantes, y mascarilla), incluso cuenta con un lugar donde se almacenan los cuadernos y registros de todas los análisis que se realizan, los cuales están divididos por análisis de peso, colorimétricos, análisis de lodos y/o aceites, entre otros.

Cabe resaltar que la limpieza dentro de la infraestructura es importante para evitar acumulación de polvo y así evitar contaminación en los materiales y/o análisis. Todos los días se limpia el laboratorio evitando que se acumule suciedad, además el diseño cuenta con estanterías con puertas donde se encuentra los instrumentos de cristal y reactivos. Las superficies de trabajo se limpian diario, al igual que el suelo y los muebles.

Dentro del laboratorio se cuenta con un sistema de ventilación para absorber los gases volátiles y polvo, además que cuentan con los escapes de las campanas de extracción. El sistema de ventilación está situado a modo de evitar la recirculación del aire del laboratorio. Además cuenta con señales de salida de emergencia y localización de extinguidores, en caso de alguna emergencia; cuenta con botiquín el cual es accesible para todo el personal, duchas en caso de emergencia, y lavado de ojos.

3.4 Equipo

Los resultados del laboratorio tienen el respaldo de la acreditación otorgada por la Oficina Guatemalteca de Acreditación (OGA), según registro OGA-LE-006-04, y cuentan con validez internacional. Esto indicada que también el equipo debe estar certificado para hacer validos los resultados. Ecosistemas cuenta con tecnología de primera para la confiabilidad de los resultados, tanto en laboratorio como en el campo, y además cuenta con los instrumentos básicos de todo laboratorio. Además de eso cuenta con todos los reactivos y soluciones necesarios para llevar a cabo todo tipo de análisis. Estos se encuentran almacenados dentro de una bodega especial o dentro de gavetas cerradas donde no le pega la luz y se mantiene a una temperatura constante.

Entre los equipos más grandes están: el equipo para realizar cromatografía de gases, equipo para absorción atómica de metales pesados, cuenta con dos campanas de extracción, dos incubadoras que llegan a temperaturas de 36°C, y una incubadora para realizar DBO. Entre los aparatos medianos y pequeños están: HACH, NOVA, dos calentadores de tubos de ensayo electrónicos, mufla, horno calentador, OxiTop OC 110, frascos de ámbar para DBO, frascos para medición de biogás, computadoras conectadas a algunos equipos, balanza analítica, pipetas electrónicas, y un dispensador para agua desmineralizada.



Fig. No. 6 Equipos grandes: campanas de extracción y absorción atómica de metales pesados

(Trabajo de campo, 2015).

3.4.1 Materiales de uso general

Estos materiales son los que tienen todos los laboratorios y son los básicos para cualquier tipo de análisis. Estos son:

- Cristalería: tubos de ensayo, refrigerante de rosario, refrigerante de serpentín, refrigerante recto, cristizador, matraz de reacción, matraz de destilación, balones aforados con base, vidrio de reloj, varillas, y frasco de woolf.
- Porcelana: mortero y pilón.
- Metal: soporte universal y pinzas con nuez, y autoclave.
- Plástico: gradilla, pizetas, cepillo para tubos de ensayo (diferentes tamaños), y frasco lavador.

3.4.2 Materiales volumétricos

Como su nombre lo indica, son los materiales utilizados para medir volúmenes. Ecosistemas cuenta desde volúmenes muy pequeños, hasta muy altos, estos son:

- Cristalería: Erlenmeyer, beaker, matraz aforado, pipetas volumétricas y graduadas, probetas graduadas, y buretas.
- Plástico: goteros.

3.4.3 Materiales de calentamiento

Son hechos de materiales resistente a altas temperaturas, estos son:

- Cristalería: mechero de alcohol, balón de destilación y termómetro.
- Porcelana: cápsula de porcelana, y crisoles.
- Metal: mechero de Bunsen, rejilla, pinzas para crisol, trípode, aro metálico, y tenazas.
- Otro material: hornilla eléctrica

3.4.4 Materiales para pesar

Lo que utilizan para pesar es una balanza analítica, la cual se encuentra en un área totalmente cerrada, con puertas y ventanas de vidrio, esto es para evitar que algún material extraño altere los resultados. Dentro están todos los instrumentos necesarios para el pesaje.

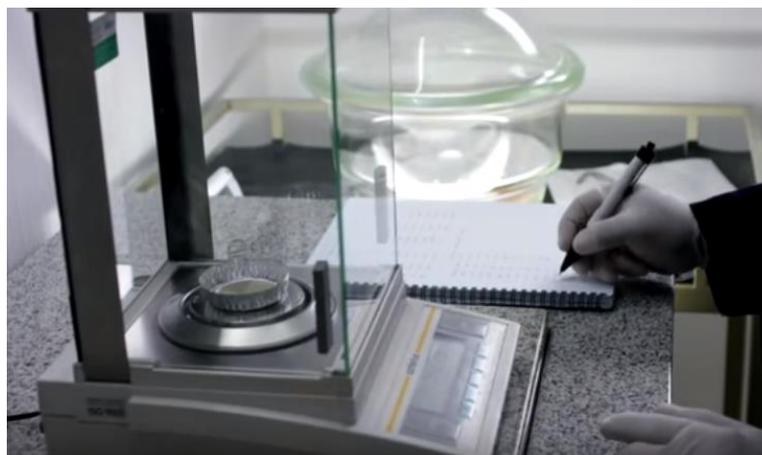


Fig. No. 7 Balanza Analítica en área cerrada (Trabajo de campo, 2015)

3.4.5 Materiales de Separación

Estos materiales como su nombre lo indica sirven para separar sustancias líquidas. El instrumento más utilizado es el Embudo de Separación, tiene una forma de globo, existen en distintas capacidades volumétricas como: 250mL o 500mL; es utilizado para separar líquidos inmiscibles como grasas o aceites. Este instrumento se encuentra en el área de lodos y aceites.

Otros instrumentos que utilizan son:

- Cristalería: embudo analítico, embudo de separación, kitasato, refrigerante de Licbig, aparato de Kipp, tubo capilar, probeta de decantación, embudo de Buchner, matraz volumétrico, y frascos de gotero.
- Papel: papel filtro.
- Plástico: embudo corriente, capsula de Petri, pizetas, y frascos de reactivo.



Fig. No. 8 Embudo de Separación para líquidos inmiscibles (Trabajo de campo, 2015)

3.4.6 Otros Materiales de Laboratorio

Otros instrumentos que son indispensables en cualquier laboratorio son los utensilios de sostén, estos instrumentos son usados como apoyo para otros instrumentos, algunos son:

- Porcelana: triángulo de porcelana.
- Metal: pinzas Holder, anillo de hierro, bornes, tela de alambre.

También están los utensilios de uso específico, los cuales se usan únicamente para procedimientos especiales, algunos son:

- Cristalería: alargadera de destilación, aparato de destilación, aparato de extracción SOXHLET, y desecador.
- Metal: baño maría cromado, calorímetro, cuba hidroneumática.
- Vidrio: embudo de Buchner.



Fig. No. 9 Algunos instrumentos utilizados en Ecosistemas (Ecosistemas, 2015)

4. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

4.1 Organigrama

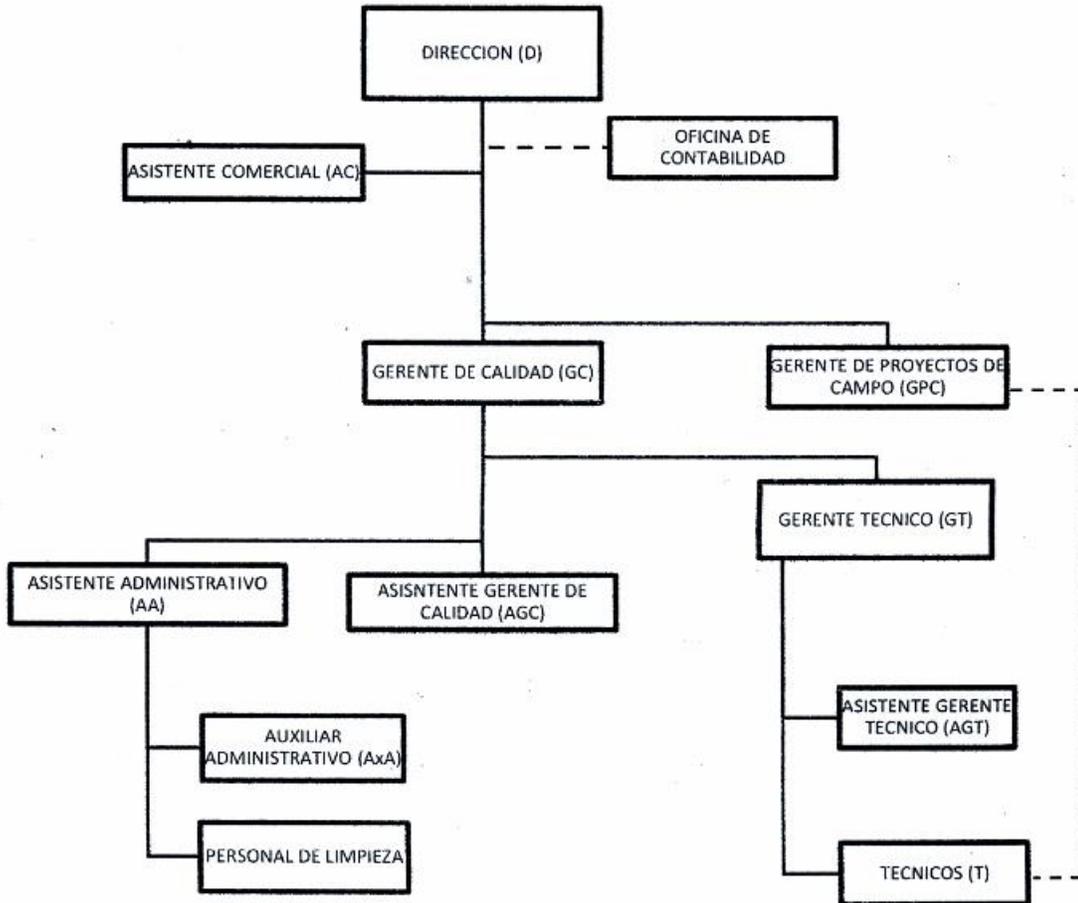


Fig. No. 10 Organigrama de Ecosistemas Proyectos Ambientales (Ecosistemas, 2015)

4.2 Cantidad de Personal

Ecosistemas cuenta con: una persona en Dirección, una persona como Asistente Comercial, una persona en la Oficina de Contabilidad, una persona en Gerente de Calidad, una persona como Gerente de Proyectos de Campo, una persona como Asistente Administrativo, una persona como Asistente Gerente de Calidad, una persona como Auxiliar Administrativo, una persona para Limpieza, un Gerente Técnico, un Asistente Gerente Técnico, y seis técnicos. En total la empresa cuenta con 17 personas laborando dentro de la empresa. Cada persona está calificada para el puesto que está asignado.

5. ACTIVIDADES REALIZADAS

5.1 Descripción de las actividades realizadas

5.1.1 Validación de Métodos Analíticos Colorimétricos

La validación de un método es un requisito importante en la práctica del análisis químico. En la literatura técnica existe ya mucha información relacionada a la validación de métodos, especialmente en lo que concierne a métodos específicos (Duffau, y otros, 2010).

En el proceso de validación del método está implícito que los estudios para determinar los parámetros de desempeño se realizan usando equipos dentro de especificaciones, que están trabajando correctamente y que están calibrados adecuadamente. Asimismo, el operador que realiza los estudios debe ser técnicamente competente en el campo de trabajo bajo estudio y debe poseer suficiente conocimiento sobre el trabajo a realizar con el fin de que sea capaz de tomar decisiones apropiadas a partir de las observaciones hechas mientras avanza el estudio (Trejo & Pérez, 2005).

La validación de un procedimiento analítico establece pruebas documentales que demuestran científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Se realizan un conjunto de pruebas de manera de comprobar varios aspectos del comportamiento del método, y establecer que sirve para el fin previsto (Duffau, y otros, 2010). La validación implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no sólo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales (Trejo & Pérez, 2005).

Un método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados para el uso en un problema analítico específico (Trejo & Pérez, 2005). Por ejemplo:

- Un nuevo método desarrollado para un problema específico
- Un método ya establecido revisado para incorporar mejoras o extenderlo a un nuevo problema
- Cuando el control de calidad indica que un método ya establecido está cambiando con el tiempo.
- Un método establecido usado en un laboratorio diferente o con diferentes analistas o con diferente instrumentación.

- Para demostrar la equivalencia entre dos métodos, por ejemplo, entre un método nuevo y uno de referencia.

5.1.1.1 Estadística Básica

Para los fines de una validación, se utilizan normalmente ciertas mediciones estadísticas, que nos ayudan a establecer si el método se encuentra dentro de un parámetro aceptable (Duffau, y otros, 2010), normalmente se determinan las siguientes:

Media: Conocida también como media aritmética o promedio, es la cantidad total de la variable (muestra o medida) distribuida a partes iguales entre cada observación (Duffau, y otros, 2010). En términos matemáticos, es igual a la suma de todos sus valores dividida entre el número de sumandos.

$$X = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Siendo:

x_i = valor de una lectura.

n = número de lecturas

Desviación estándar (S): Es el promedio de lejanía de los valores obtenidos (lecturas) respecto del promedio (Duffau, y otros, 2010).

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - X)^2}{n-1}}$$

Siendo:

x_i = valor de una lectura.

X = promedio de la totalidad de lecturas.

n = número de lecturas

Coefficiente de Variación (CV): Desviación estándar dividida por la media. También es conocida como desviación estándar relativa (RSD) (Duffau, y otros, 2010). El coeficiente de variación puede ser expresado en porcentaje:

$$\%CV = \frac{S}{X} \times 100$$

Siendo:

S = desviación estándar de las lecturas.

X = promedio de la totalidad de lecturas.

Varianza: Es una medida de dispersión definida como el cuadrado de la desviación estándar (Duffau, y otros, 2010).

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - X)^2}{n-1}$$

Siendo:

x_i = valor de una lectura.

X = promedio de la totalidad de lecturas.

n = numero de lecturas

Pruebas de Significancia: Es frecuente utilizar pruebas de significancia estadísticas durante el proceso de validación de los métodos analíticos en este sentido (Duffau, y otros, 2010), se aplican comúnmente las siguientes:

1. Prueba t- student para identificar errores sistemáticos (sesgo).
2. Prueba F-Fisher para identificar errores aleatorios (precisiones).

Al hacer una prueba de significancia se comprueba la veracidad de una hipótesis experimental, llamada “hipótesis alternativa” con respecto a la hipótesis nula (Trejo & Pérez, 2005).

Es la hipótesis alternativa la que determina el número de colas. Si la hipótesis alternativa contiene la frase “mayor que” o “menor que”, la prueba es de una cola. Si la hipótesis alternativa contiene la frase “no es igual que”, la prueba es de dos colas (Trejo & Pérez, 2005).

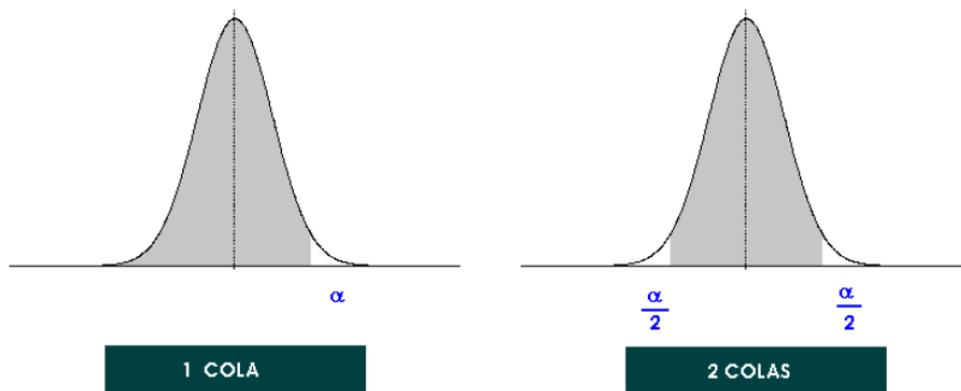


Fig. No. 11 Criterio para elegir la cola correcta (Trejo & Pérez, 2005)

1. “La media es igual al valor dado” versus “la media no es igual al valor dado” → dos colas
2. “La media es igual al valor dado” versus “la media es menor que el valor dado” → una cola
3. “La media es igual al valor dado” versus “la media es mayor que el valor dado” → una cola

Prueba t-Student: Se procede a determinar el valor t de student calculado, obtenido de la experiencia analítica, y este valor posteriormente se compara con el llamado valor crítico, este valor critico se obtiene de la tabla de t-student para un determinado porcentaje de confiabilidad (normalmente se utiliza el 95% de confianza, es decir, un valor a de 0,05). Si no existen diferencias significativas entre 2 grupos, la t calculada debería ser inferior al t crítico (o conocido también como t de tabla) (Duffau, y otros, 2010).

Prueba F (de Fisher): Prueba en la que el estadístico utilizado sigue una distribución F si la hipótesis nula no puede ser rechazada. En estadística aplicada se prueban muchas hipótesis mediante el test F, entre ellas: La hipótesis nula = H_0 de que las medias de múltiples poblaciones normalmente distribuidas y con la misma desviación estándar son iguales. Esta es, quizás, la más conocida de la hipótesis verificada mediante el test F y el problema más simple del análisis de varianza. Y la hipótesis de que las desviaciones estándar de dos poblaciones normalmente distribuidas son iguales (Trejo & Pérez, 2005).

5.1.1.2 Pruebas para Validación

La OGA (Oficina Guatemalteca de Acreditación) es la entidad encargada de validar los métodos analíticos para las empresas. No hay un número en específico de cuantas pruebas piden y tampoco no hay una guía de cómo realizar los informes para entregarlos.

Para realizar algún método de validación se necesita seguir una serie de pasos para llevar de una manera ordenada las pruebas. A continuación se presenta un esquema del procedimiento correcto para realizar una validación:

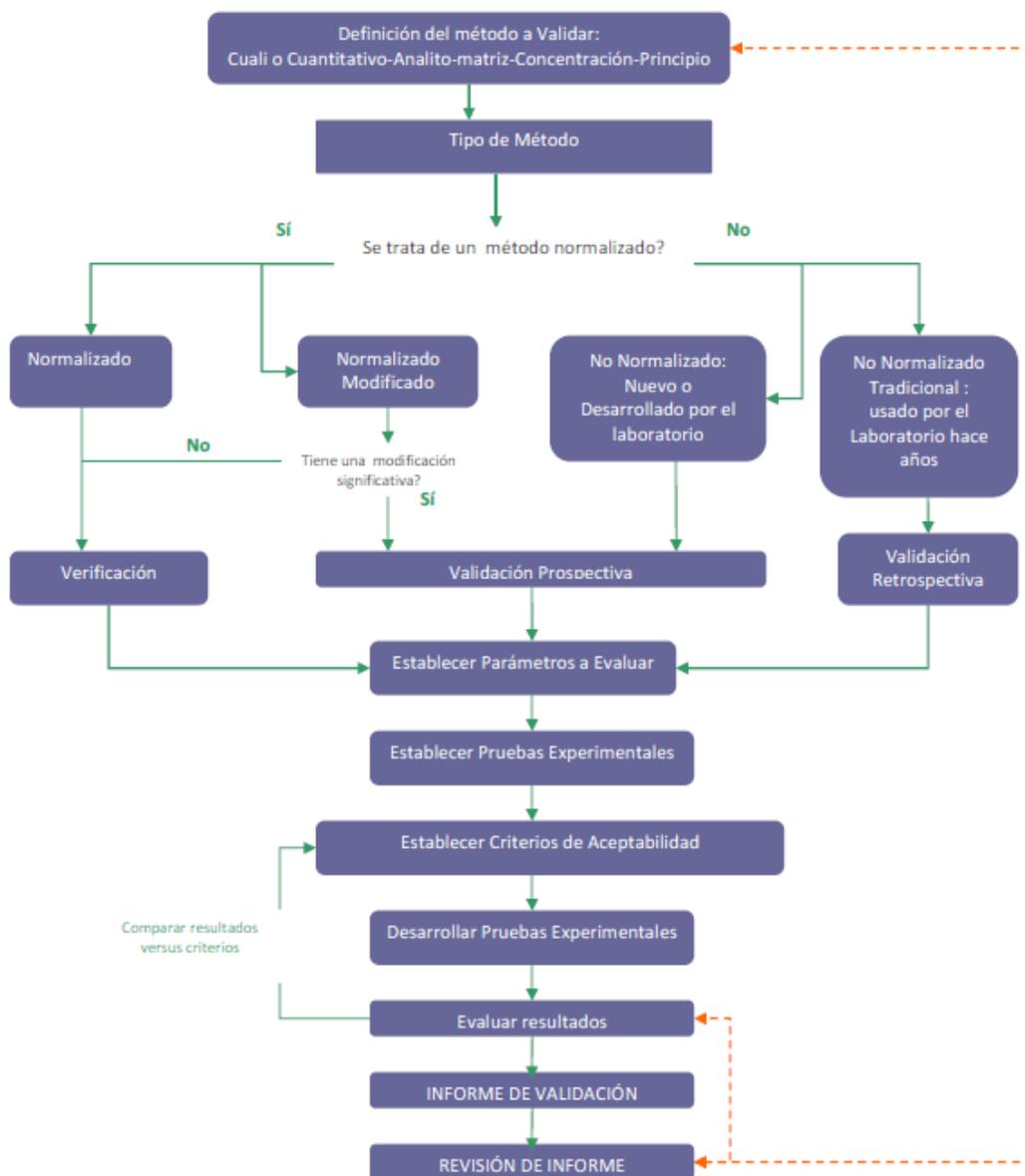


Fig. No. 12 Esquema del proceso de validación para un método analítico (Duffau, y otros, 2010)

Para Ecosistemas realicé siete pruebas para la validación de métodos analíticos, cada prueba se realizó con los pasos que se muestran en la Fig. 12. El primer paso es determinar el tipo de método que se desea validar. Después que se tiene el tipo de método que se desea utilizar se procede a ver cuáles métodos de validación son los indicados para los análisis. Para Ecosistemas realicé siete pruebas distintas, estas fueron:

5.1.1.2.1 Linealidad

Descripción: En las pruebas de linealidad se hizo una tabla donde se puso el número de prueba, la concentración (promedio), la absorbancia (promedio), ajuste lineal y ajuste cuadrático. Para esta prueba se sacaron dos gráficas, una lineal y otra cuadrática; se utilizó la absorbancia y la concentración para realizarlas. Por cada gráfica se sacaba la ecuación lineal y cuadrática para hacer un ajuste. La diferencia de varianzas se obtuvo a partir del coeficiente de correlación, con el cual se determinó PG y a través del criterio de aceptación con la Distribución de Fisher se concluye si hay linealidad en la prueba realizada. Al final se concluye lo siguiente: Como $PG \leq F$, se concluye que la función de calibración es lineal

Teoría: La linealidad es la capacidad de un método de análisis, dentro de un determinado intervalo, de dar una respuesta o resultados instrumentales que sean proporcionales a la cantidad del analito que se habrá de determinar en la muestra de laboratorio (Trejo & Pérez, 2005).

Con el fin de determinar el rango lineal se puede realizar mediante un gráfico de concentración versus respuesta, que se conoce como Función Respuesta (normalmente llamada recta de calibrado). Esta se establece cada día con una cierta cantidad de valores formados por un blanco y los patrones de trabajos limpios de valor teórico conocido, que cubran el intervalo de trabajo. En este sentido se recomienda abarcar valores desde cercano al cero y valores superiores al LMP o al valor de interés. El número de puntos a analizar deberá ser establecido por el analista (en general, se utiliza un mínimo de 4 valores) (Duffau, y otros, 2010).

Luego de realizar el gráfico se puede observar el comportamiento de la curva y establecer cualitativamente el rango lineal (fig.13). Después de establecer el comportamiento lineal del método se deberá realizar la Curva de trabajo o curva de calibración (fig.14). Graficar los datos de concentración de los estándares de calibración estimados (X) v/s la lectura observada (Y).

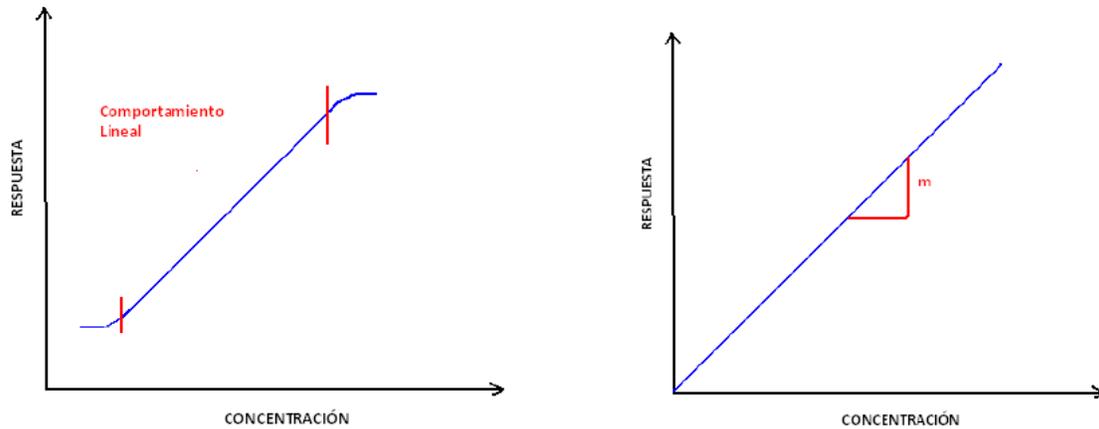


Fig. 13 y Fig. 14 Curva de rango lineal y curva de calibración (Duffau, y otros, 2010)

Evaluar los estimadores de regresión lineal del gráfico: la pendiente (m), el coeficiente de correlación y el punto de corte (intercepto) con el eje de las Y (L_0) (Duffau, y otros, 2010) .

$$Y = X \times m + L_0$$

En general el criterio de aceptación cualitativo que se usa para determinar la linealidad es el coeficiente de correlación:

El coeficiente de correlación indica el grado de relación entre la variable concentración (X) y la variable respuesta (Y) de la curva de calibración. Los valores máximos que puede alcanzar son -1 y 1 . El valor máximo de 1 indica una correlación positiva perfecta (entre X e Y) con una pendiente positiva. Cuando $r=0$, no existe correlación alguna, independencia total de los valores X e Y (Duffau, y otros, 2010).

En la práctica si r tiene un valor cercano a uno, esto significa que existe correlación con una probabilidad elevada. Para una curva de calibración o trabajo, es recomendable que el coeficiente de correlación obtenido sea mayor o igual a 0.999 , aunque para el caso de trazas se admite un valor igual o mayor que 0.99 (Duffau, y otros, 2010).

Se calcula un valor de t con $n-2$ grados de libertad y se compara con el valor tabulado de t para el nivel de confianza requerido ($\alpha = 0.05$), dos-colas, en este caso para un “ n ” que depende de los niveles de calibración (Trejo & Pérez, 2005).

El análisis estadístico que se usa en la linealidad es:

- Curva de Regresión $y = a + bx$
- Coeficiente de determinación r^2
- Análisis de varianza con: estimación falta de ajuste y error residual puro.

Si $p > 0.05$ es significativo y por ende los datos tienden a ser lineales. Es importante recordar que la linealidad no mide si la pendiente es recta, mide si los números correlativos presentan alguna linealidad; es decir que los coeficientes de correlación son buenos indicadores correlativos, pero no necesariamente de linealidad.

5.1.1.2.2 Sensibilidad

Descripción: En una regresión lineal la sensibilidad corresponde a la pendiente (m) de la recta de calibración. Mientras más próxima al eje Y este la recta, significa que a ligeros cambios en las concentraciones esperadas habrá grandes variaciones en los resultados de las lecturas observadas. En el caso que la pendiente esté más cerca del eje X grandes cambios en la concentración no son significativos para la lectura. Este criterio se utilizó para realizar las pruebas de sensibilidad.

Teoría: La sensibilidad es el cociente entre el cambio en la indicación de un sistema de medición y el cambio correspondiente en el valor de la cantidad objeto de la medición (Duffau, y otros, 2010).

En una regresión lineal la sensibilidad corresponde a la pendiente (m) de la recta de calibración.

En fig. No 15, se puede observar que mientras más próxima al eje de las Y este la recta, significa que a ligeros cambios en las concentraciones esperadas habrá grandes variaciones en los resultados de las lecturas observadas [m2] En el caso de [m3] grandes cambios en la concentración no son significativos para la lectura (Duffau, y otros, 2010).

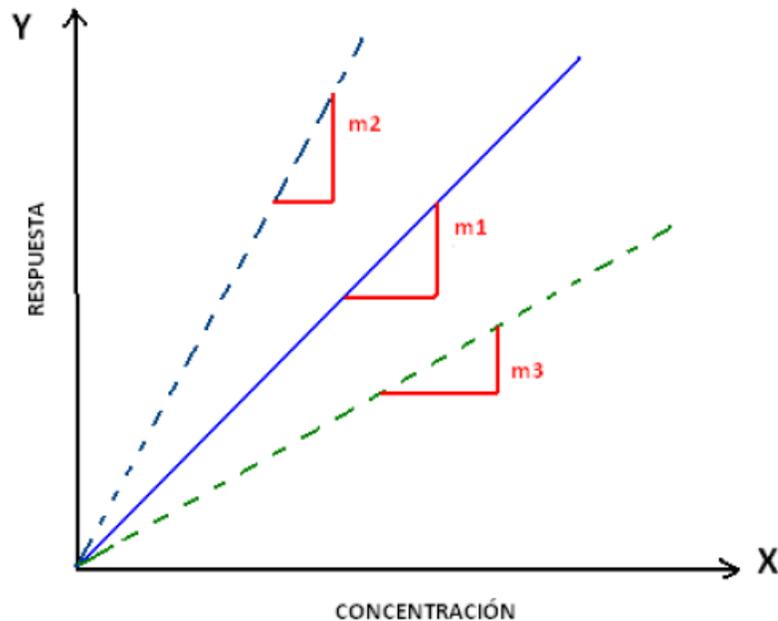


Fig. No. 15 Pendientes para observar la sensibilidad (Duffau, y otros, 2010).

Se dice, que un método es sensible cuando una pequeña variación de concentración determina una gran variación de respuesta. La sensibilidad permite observar la capacidad de respuesta instrumental frente a una determinada cantidad de analito. En el tiempo, visualiza cómo se comporta el instrumento (Duffau, y otros, 2010).

5.1.1.2.3 Límites

Descripción: Para trabajar los límites de detección y cuantificación se calculó por cada concentración, en cada rango de trabajo, pero solo se utilizó la concentración más baja por cada rango para los resultados finales. El límite de detección es tres veces la desviación estándar más el promedio de las lecturas. El límite de cuantificación es diez veces la desviación estándar más el promedio.

Teoría: Valor crítico (LC): El valor de la concentración o cantidad neta que en caso de superarse da lugar, para una probabilidad de error dada α , a la decisión de que la concentración o cantidad del analito presente en el material analizado es superior a la contenida en el material testigo (Duffau, y otros, 2010). Se recomienda para su cálculo a lo menos seis mediciones de blanco matriz o testigo reactivo.

Límite de detección (LOD): Concentración o cantidad real del analito presente en el material objeto de análisis que llevara, con una probabilidad $(1-\beta)$, a la conclusión de que la concentración o cantidad del analito es mayor en el material analizado que en el material testigo (Trejo & Pérez, 2005). Menor concentración o cantidad de analito detectable con razonable certeza por un procedimiento analítico dado. Concentración que proporciona una señal en el instrumento significativamente diferente de una muestra blanco (OAA, 2013).

Límite de cuantificación (LOQ): Una característica del funcionamiento del método que suele expresarse como señal del valor (verdadero) de la medición que producirá estimaciones con una desviación estándar relativa (RSD) generalmente de 10 % (o 6 %) (Trejo & Pérez, 2005).

El LOQ se calcula mediante la siguiente formula: $LOQ = 10 S_o$

Es la menor concentración de analito que puede determinarse con precisión y exactitud razonables en las condiciones establecidas y se expresa en unidades de concentración (OAA, 2013).

5.1.1.2.4 Exactitud

Descripción: Para la prueba de exactitud (veracidad) se realizó la prueba de hipótesis (prueba de t), se hizo con todas las concentraciones de cada rango de trabajo. Esta prueba nos indica si estadísticamente hay o no evidencia alguna de algún error sistemático. La t_{lab} se obtuvo a partir de una distribución de t Student con 0.05 de probabilidad y con nueve grados de libertad. La prueba nos indica que si t es mayor que t_{lab} entonces la prueba es satisfactoria y no hay evidencia de errores sistemáticos.

Teoría: Para obtener este resultado para las pruebas de precisión se sacó el valor del límite de repetibilidad (r), el cual debía ser mayor a la desviación estándar para obtener un resultado satisfactorio; también se sacó el porcentaje de CV y el valor de CV r donde CV% debe ser menor a CV r para un resultado satisfactorio.

El término “exactitud”, esta aplicado a un conjunto de resultados de un ensayo, y supone una combinación de componentes aleatorios y un componente común de error sistemático o sesgo (Duffau, y otros, 2010).

Cuando se aplica a un método de ensayo, el término “exactitud” se refiere a una combinación de veracidad y precisión. En el siguiente esquema de “Tiro al Blanco”, ampliamente utilizado para ejemplificar esto, los punto u orificios equivaldrían a los resultados analíticos y el círculo rojo al centro el rango en el cual se espera este el valor de referencia (o verdadero) (Duffau, y otros, 2010). Como se puede observar en la fig. 15, entre más veraz y preciso sea un resultado analítico, es más exacto.

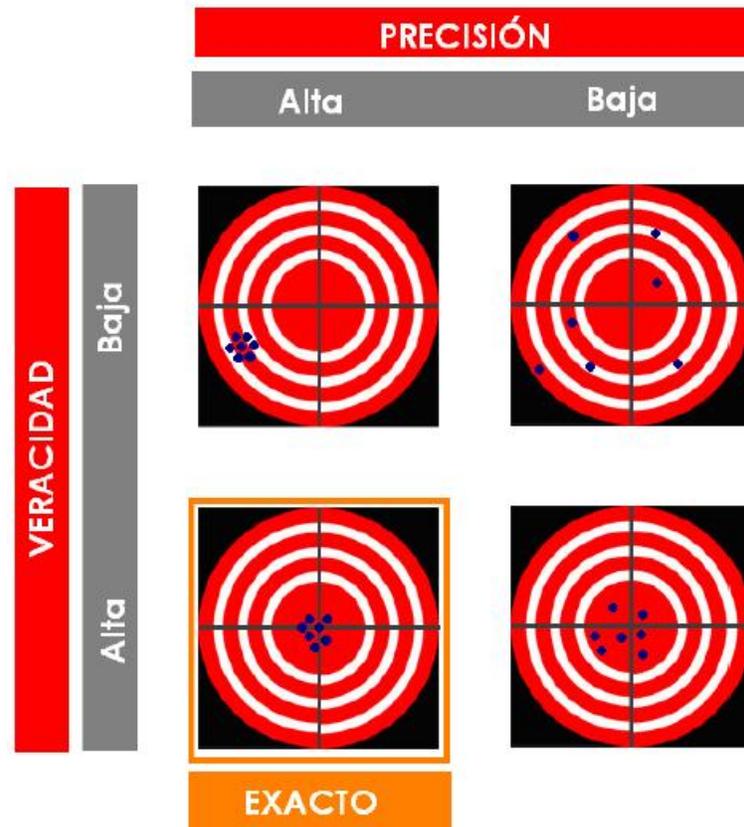


Fig. No. 16 Explicación sobre la diferencia entre precisión y exactitud (Duffau, y otros, 2010).

Veracidad: Determina el grado de coincidencia existente entre el valor medio obtenido de una serie de resultados y un valor de referencia aceptado (OAA, 2013). La veracidad puede ser determinada por sesgo o recuperación.

El sesgo es la diferencia entre la expectativa relativa a los resultados de un ensayo o una medición y el valor verdadero. En la práctica el valor convencional de cantidad puede sustituir el valor verdadero (Duffau, y otros, 2010). El sesgo es el error sistemático total en

contraposición al error aleatorio.

Para determinar el sesgo puede utilizarse material de referencia, material fortificado, material control, material ensayo de aptitud: Para este fin, se debe medir un analito de concentración conocido y se determina la diferencia en valor absoluto entre el valor conocido y la media del valor obtenido (OAA, 2013). Una diferencia sistemática importante en relación al valor de referencia aceptado se refleja en un mayor valor del sesgo, cuanto más pequeño es el sesgo, mayor veracidad indica el método (Duffau, y otros, 2010).

La recuperación permite ver el rendimiento de un método analítico en cuanto al proceso de extracción y la cantidad del analito existente en la muestra original. Por lo cual, la recuperación esta intrínsecamente relacionada a las características de la matriz de la muestra (OAA, 2013).

Se recomienda realizar a lo menos 6 mediciones de cada uno en lo posible en tres niveles. Se debe considerar al elegir estos niveles el rango de la curva de calibración del método, el LOD y el LMP establecido (OAA, 2013). De manera que los niveles seleccionados permitan entregar la mejor información posible respecto a la capacidad de recuperación del método, en cuanto a estos valores críticos (Trejo & Pérez, 2005).

Precisión: La precisión podrá establecerse en términos de Repetibilidad y reproducibilidad. El grado de precisión se expresa habitualmente en términos de imprecisión y se calcula como desviación estándar de los resultados (Duffau, y otros, 2010).

- **Repetibilidad:** Es la precisión bajo las condiciones de repetibilidad, es decir, condiciones donde los resultados de análisis independientes se obtienen con el mismo método en ítems de análisis idénticos en el mismo laboratorio por el mismo operador utilizando el mismo equipamiento dentro de intervalos cortos de tiempo (OAA, 2013).

Se puede determinar registrando a lo menos 6 mediciones bajo las mismas condiciones (mismo operador, mismo aparato, mismo laboratorio y en corto intervalo de tiempo) de un analito en un Material de Referencia. Calcular la Desviación Estándar (S_r) y el porcentaje de coeficiente de variación (CVr%) (Duffau, y otros, 2010).

- **Reproducibilidad:** Es la precisión bajo las condiciones de reproducibilidad, es decir, condiciones donde los resultados de los análisis se obtienen con el mismo método en ítem idénticos de análisis en condiciones diferentes ya sea de laboratorio, diferentes operadores, usando distintos equipos, entre otros (OAA, 2013).

Para determinar la precisión de la reproducibilidad dentro de un laboratorio se sugiere realizar 3 mediciones de un Material de Referencia (o material control) una vez por cada semana o el comportamiento de la curva de calibración en 3 días distintos (Trejo & Pérez, 2005).

También, se puede determinar registrando a lo menos 10 mediciones en días distintos, o en un mismo día cambiando a lo menos una condición analítica (ejemplo: operador, aparato, reactivos y largo intervalo de tiempo) de un analito en un Material de Referencia. Calcular la desviación estándar (SR_i) y el porcentaje de coeficiente de variación (CVR_i%) (Trejo & Pérez, 2005).

5.1.1.2.5 Intervalo o Rango

Descripción: Para esta prueba se tomó la concentración menor y mayor por rango de trabajo. Se sacó el PG, y con la distribución de Fisher se determinó si las varianzas eran significativas o no para la gama de trabajo. Para un resultado con varianza no significativa el PG debe ser menor a F; si es mayor se interpreta con que las varianzas si son significativas y la gama de trabajo debe reducirse hasta que la diferencia entre las variaciones relativas a la primera y la últimas permitan obtener estándar PG menor a F.

Teoría: Intervalo entre la concentración máxima y mínima de analito en la cual se puede determinar al analito con un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad utilizando el método en cuestión (OAA, 2013).

Para verificar que el método analítico proporciona linealidad, precisión y exactitud aceptables cuando se aplica a muestras que contienen el analito en los extremos y dentro del intervalo. En las pruebas de intervalo o rango se busca la homogeneidad de varianzas estadísticas de los valores de ambos extremos dentro de un rango de trabajo específico (Trejo & Pérez, 2005).

5.1.1.2.6 Robustez

Descripción: Para realizar la prueba de robustez se deben identificar aquellos factores del método que posiblemente afectarían los resultados finales obtenidos a través de este. Estos factores están habitualmente en el método, se procede a exponer a cada factor a un estudio de variable, es decir se expone a una variación respecto de la establecida en el método, cada variable se estudia mediante un valor alto y otro bajo. Este fue el criterio que se utilizó para todos los analitos.

Teoría: La robustez es una medida de la capacidad de un procedimiento analítico de no ser afectado por variaciones pequeñas pero deliberadas de los parámetros del método; proporciona una indicación de la fiabilidad del procedimiento en un uso normal (OAA, 2013). En este sentido el objetivo de la prueba de robustez es optimizar el método analítico desarrollado o implementado por el laboratorio, y describir bajo qué condiciones analíticas (incluidas sus tolerancias), se pueden obtener a través de este, resultados confiables (Duffau, y otros, 2010). Un método de ensayo es más robusto entre menos se vean afectados sus resultados frente a una modificación de las condiciones analíticas (Trejo & Pérez, 2005).

Entre las condiciones analíticas que podrían afectar a un método se encuentran:

- Equipos
- Cantidad de Reactivos
- pH
- Temperatura.
- Tiempo de reacción.
- Estabilidad de la muestra.
- Otros.

Estos factores están presentes habitualmente en el método (ejemplo: temperatura, composición de fase móvil o soluciones reactivas, pH de solución, tamaño de celda espectrofotométrica, flujo gas carrier, split, etc.). Para estudiar la robustez se procede a exponer a cada factor a un estudio de variable, es decir se expone a una variación respecto de la establecida en el método, es decir, cada variable se estudia mediante un valor alto y otro bajo. En este sentido, cuanto mayor sea la diferencia de los resultados entre el valor mayor y el valor menor, mayor influencia tendrá dicha variable en el método analítico (Duffau, y otros, 2010).

5.1.1.3 Metodología para Pruebas de Validación

La metodología fue la misma para todos los analitos, con la única variación del equipo (HACH o NOVA 60) a utilizar y el procedimiento que lleva cada análisis colorimétrico.

En el HACH se utiliza solo una cubeta de 10mL, y depende el procedimiento, se utiliza directamente el tubo de ensayo para la medición como lo es en el caso del nitrógeno total.



Fig. No. 17 Equipo certificado de HACH para análisis colorimétricos
(Trabajo de campo, 2015)

En el equipo de NOVA 60 se puede hacer uso de tres cubetas distintas: cubeta 50 (10mL), se utiliza para medir concentraciones muy pequeñas; cubeta 20 (5mL), se utiliza para medir concentraciones medianas; y cubeta 10 (1mL), se utiliza para medir concentraciones muy altas.



Fig. No. 18 Equipo certificado de Merck (NOVA 60) para análisis colorimétricos
(Trabajo de campo, 2015)

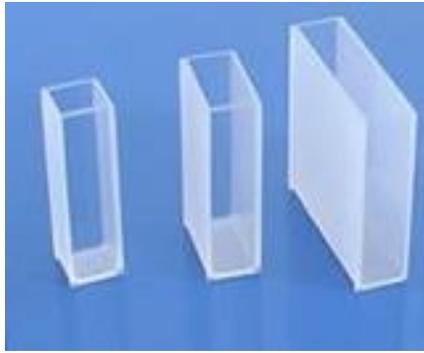


Fig. No. 19 De izquierda a derecha: cubeta 10, cubeta 20 y cubeta 50 (Merck, 2012)

La metodología para las pruebas de validación fue la misma para los ocho analitos. Para empezar el rango de trabajo se eligió acorde al límite de detección máximo y mínimo que presentaba el equipo para el tipo de análisis. Cuando ya teníamos nuestro rango de trabajo, se procedió con realizar los cálculos para las concentraciones que se encontraban dentro del rango. Al tener los cálculos se empezó a realizar las concentraciones en balones aforados. Después de tener las concentraciones se agarraba la cantidad de muestra necesaria y se seguía la metodología según el análisis a realizar. Para evitar desperdicio de solución Patrón y de reactivos, con una muestra se tomaban diez lecturas. Al tener los resultados se trabajaron en Excel, se estimó el promedio, desviación estándar, y varianza de cada concentración, y se proseguía a realizar los cálculos para las pruebas de validación anteriormente dichas.



Fig. No. 20 Aforando para las concentraciones de Ortofosfatos (Trabajo de campo, 2015)

Para la validación fueron ocho análisis colorimétricos que se acreditaron, los cuales fueron:

Amonio NH₄-N: Para la validación del amonio se utilizó el equipo de Merck (NOVA 60). Se trabajaron dos cubetas y en cada una, un rango distinto de trabajo; para la cubeta 20 un rango de 0.03 – 1.5 mg/L, y para la cubeta 10 un rango de 0.05 – 3.00 mg/L. Para realizar las concentraciones se utilizó una solución Patrón con una concentración de 100 mg/L de NH₃-N.

- Metodología:

Muestra preparada (20 - 30 °C)	5,0 ml	Pipetear en un tubo de ensayo.
Reactivo NH ₄ -1 (20 - 30 °C)	0,60 ml	Añadir con pipeta y mezclar.
Reactivo NH ₄ -2	1 microcuchara azul rasa (en la tapa del frasco NH ₄ -2)	Añadir y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente.
Dejar en reposo 5 minutos (tiempo de reacción A).		
Reactivo NH ₄ -3	4 gotas ¹⁾	Añadir y mezclar.
Dejar en reposo 5 minutos (tiempo de reacción B), luego introducir la muestra de medición en la cubeta y medir en el fotómetro.		

¹⁾ ¡Mantener el frasco verticalmente durante la adición del reactivo!

Fig. No. 21 Análisis de Amonio (Productos Merck Millipore, 2012)

Cloruros Cl⁻: Para la validación de cloruros se utilizó el equipo de Merck (NOVA 60). La metodología nos indica que según la cantidad aproximada de cloruros que haya en el agua, es en el rango que debemos trabajarlo. Merck nos da dos rangos distintos para analizar cloruros, y para la validación utilizamos los dos rangos, los cuales fueron: rango A de 2.5 – 25 mg/L, y rango B de 10 – 250 mg/L. Para los dos rangos de trabajo, sus concentraciones se hicieron con una solución Patrón de 1000 mg/L de Cl.

- Metodología:

Intervalo de medida 2,5 - 25,0 mg/l de Cl⁻:

Muestra preparada (10 - 30 °C)	5,0 ml	Pipetear en un tubo de ensayo.
Reactivo Cl-1	2,5 ml	Añadir con pipeta y mezclar.
Reactivo Cl-2	0,50 ml	Añadir con pipeta y mezclar.
Dejar en reposo 1 minuto (tiempo de reacción), luego introducir la muestra de medición en una cubeta de 10 mm y medir en el fotómetro.		

Intervalo de medida 10 - 250 mg/l de Cl⁻:

Muestra preparada (10 - 30 °C)	1,0 ml	Pipetear en un tubo de ensayo.
Reactivo Cl-1	2,5 ml	Añadir con pipeta y mezclar.
Reactivo Cl-2	0,50 ml	Añadir con pipeta y mezclar.
Dejar en reposo 1 minuto (tiempo de reacción), luego introducir la muestra de medición en una cubeta de 10 mm y medir en el fotómetro.		

Fig. No. 22 Análisis de Cloruros (Productos Merck Millipore, 2012)

Cromo Hexavalente Cr⁺⁶: Para la validación del cromo hexavalente se utilizó el equipo de Merck (NOVA 60). Se utilizó la cubeta 20 con un rango de trabajo 0.03 – 2 mg /L; y la cubeta 10 con un rango de trabajo de 0.03 – 3 mg/L. Las concentraciones se realizaron con una solución Patrón de 5 mg/L de Cr⁺⁶.

- Metodología:

Reactivo Cr-1	1 microcuchara gris rasa (en la tapa del frasco Cr-1)	Introducir en un tubo de ensayo seco. Añadir y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente. Añadir con pipeta y mezclar.
Reactivo Cr-2	6 gotas ¹⁾	
Muestra preparada (15 - 35 °C)	5,0 ml	
Dejar en reposo 1 minuto (tiempo de reacción), luego introducir la muestra de medición en la cubeta y medir en el fotómetro.		

¹⁾ ¡Mantener el frasco verticalmente durante la adición del reactivo!

Fig. No. 23 Análisis del Cromo Hexavalente (Productos Merck Millipore, 2012)

Fosforo Total P-PO₄: Para la validación del fosforo total se utilizó el equipo de Merck (NOVA 60). Se utilizaron las tres cubetas para realizarlos, los rangos de trabajo fueron: cubeta 50 un rango de 0.0156 – 0.937 mg/L; cubeta 20 un rango de 0.0326 – 2.445 mg/L; y cubeta 10 un rango de 0.13 – 4.89 mg/L. Para las concentraciones de cada rango, se hicieron con una solución Patrón de 1000 mg/L de PO₄.

- Metodología: Para el análisis de fosforo total, primero se debe calentar a una temperatura de 121°C por una hora y se debe esperar a que enfrié la muestra. Después que ya este a temperatura ambiente se prosigue con la metodología de Merck.

Muestra preparada (10 - 35 °C)	5,0 ml	Pipetear en un tubo de ensayo.
Reactivo PO ₄ -1	5 gotas ¹⁾	Añadir y mezclar.
Reactivo PO ₄ -2	1 microcuchara azul rasa (en la tapa del frasco PO ₄ -2)	Añadir y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente.
Dejar en reposo 5 minutos (tiempo de reacción), luego introducir la muestra de medición en la cubeta y medir en el fotómetro.		

¹⁾ ¡Mantener el frasco verticalmente durante la adición del reactivo!

Para la medición en la **cubeta de 50 mm** deben **duplicarse** el volumen de la muestra y las cantidades de los reactivos PO₄-1 y PO₄-2. En su lugar puede usarse la cubeta semimicro art. 173502.

Fig. No. 24 Análisis de Fosforo Total (Productos Merck Millipore, 2012)

Nitratos NO_3^- y N-NO_3^- : Para la validación de nitratos se utilizó el equipo de HACH. Se hicieron dos lecturas distintas: anión nitrato y nitrato total. Para cada lectura se realizó distinto rango de trabajo; para nitrato total se utilizó un rango de 0.5 – 30 mg/L, y para anión nitrato un rango de 2.204 – 132.24 mg/L. Las concentraciones de cada rango se hicieron con una solución Patrón de 1000 mg/L de N^{+3} .

- Metodología: Se debe agarrar 10mL de muestra, se le agrega un sobre completo de NitraVer 5 (Reactivo para Nitratos). Luego agitar vigorosamente por 1 minuto. Dejar reaccionar por 5 minutos.

Nitrógeno Total N^{+3} : Para la validación del nitrógeno total se utilizó el equipo de HACH. Se trabajó un rango de 10 – 100 mg/L. Las concentraciones del rango de trabajo, se hicieron con una solución Patrón de 100 mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$.

- Metodología: El análisis del nitrógeno total en HACH requiere de dos cajas que vienen identificadas respectivamente, con reactivos distintos para su análisis.

Se inicia con la caja No. 40: se agarra un tubo de la caja y se le agrega el reactivo que viene en sobre de la misma y luego se agrega 0.5mL de muestra. Agitar por 30 segundos y meter al termocalentador por 30 minutos a una temperatura constante de 105°C. Pasado los 30 minutos se deja enfriar a temperatura ambiente.

En la caja No. 21: al tubo de la muestra agregar un sobre del reactivo A y mezclar por 15 segundos. Se esperan 3 minutos. Agregar reactivo B y mezclar por 30 segundos. Luego se saca un tubo de la caja 21 y pasar 2mL del anterior tubo. Agitar muy suave y luego esperar 5 minutos.



Fig. No. 25 Kit de cajas para el análisis de Nitrógeno Total en HACH (HACH, 2015)

Ortofosfato PO₄³⁻: Para la validación de ortofosfato se utilizó el equipo de Merck (NOVA 60). Se trabajó con las tres cubetas y cada una con distinto rango de trabajo, los cuales fueron: cubeta 50 0.05–3.00 mg/L; cubeta 20 de 0.10–7.50 mg/L; y cubeta 10 de 0.4–15 mg/L. Las concentraciones de cada rango se hicieron con una solución Patrón de 1000 mg/L PO₄.

- Metodología:

Muestra preparada (10 - 35 °C)	5,0 ml	Pipetear en un tubo de ensayo.
Reactivo PO ₄ -1	5 gotas ¹⁾	Añadir y mezclar.
Reactivo PO ₄ -2	1 microcuchara azul rasa (en la tapa del frasco PO ₄ -2)	Añadir y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente.
Dejar en reposo 5 minutos (tiempo de reacción), luego introducir la muestra de medición en la cubeta y medir en el fotómetro.		

¹⁾ ¡Mantener el frasco verticalmente durante la adición del reactivo!

Para la medición en la **cubeta de 50 mm** deben **duplicarse** el volumen de la muestra y las cantidades de los reactivos PO₄-1 y PO₄-2. En su lugar puede usarse la cubeta semimicro art. 173502.

Fig. No. 26 Análisis de Ortofosfatos (Productos Merck Millipore, 2012)

Sulfatos SO₄²⁻: Para la validación de sulfatos se utilizó el equipo de HACH. Se trabajó con un rango de 2 – 70 mg/L. Las concentraciones del rango se hicieron con una solución Patrón de 1000 mg/L de SO₄²⁻.

- Metodología: Se debe agarrar 10mL de muestra, se le agrega un sobre completo de SulfaVer 4 (Reactivo para Sulfatos). Luego agitar vigorosamente por 1 minuto, y dejar reaccionar por 5 minutos.

5.1.2 Determinación de Biogás y Metano

Ecosistemas está lanzando un nuevo proyecto en el que consistirá en producir metano para venderlo como combustible y también determinar biogás, utilizando el OxiTop OC 110. Este proyecto solo estaba como una idea con la Directiva de la empresa, tomaron la decisión de dejarme a cargo del proyecto y dejarlo en proceso. Se tenía dos objetivos principales: 1) Probar que el equipo de OxiTop OC 110 funciona, y 2) Determinar cuál sustrato era el mejor para producir biogás.

La metodología que empleé para llevar a cabo el proyecto, fue la siguiente:

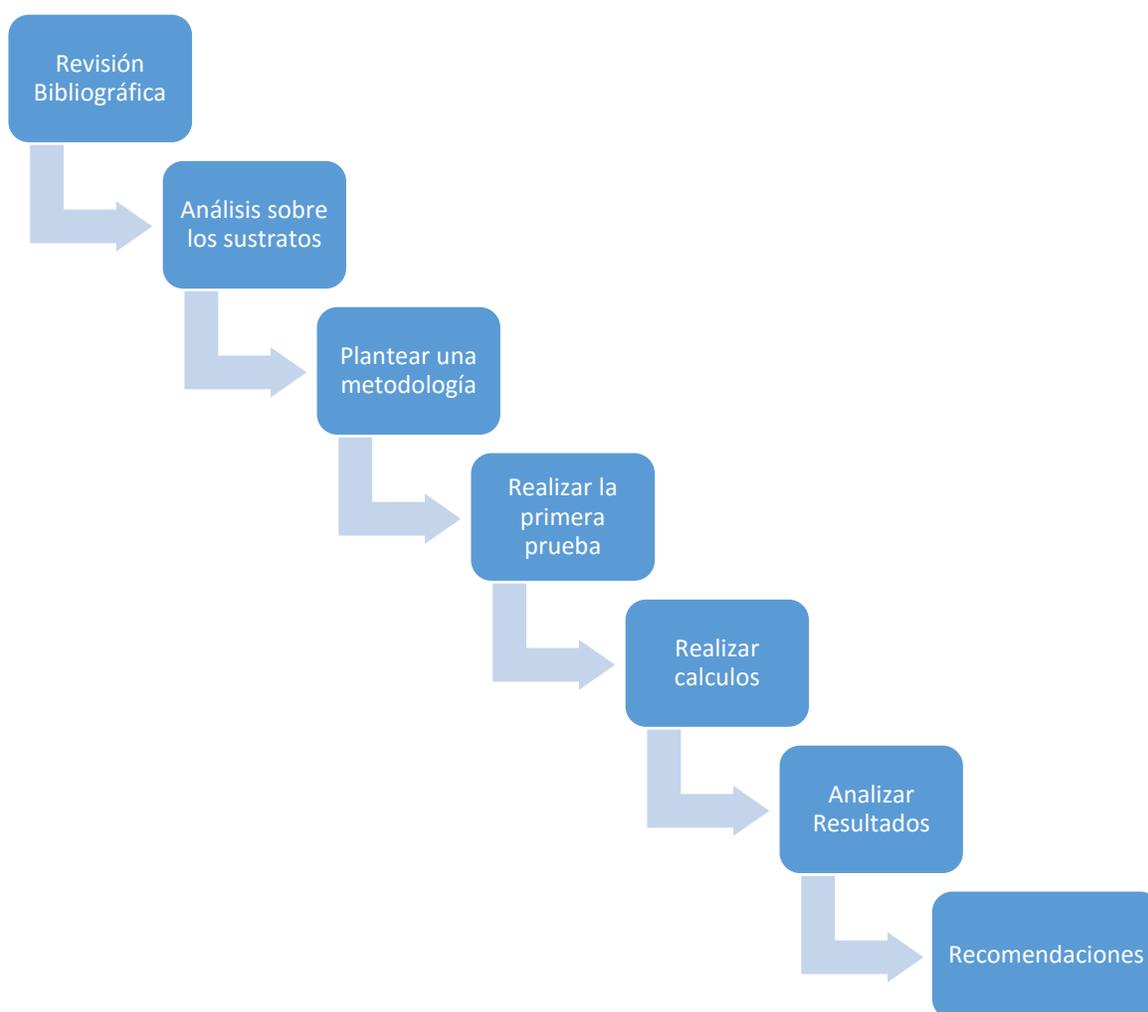


Fig. No. 27 Proceso de la metodología del proyecto de Biogás (Trabajo de campo, 2015)

5.1.2.1 Revisión Bibliográfica

Primera Bibliografía:

El biogás está compuesto principalmente de metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2). La composición general es: 71% de CH_4 y 29% de CO_2 , nitrógeno (N) y azufre (S) están presentes en pequeñas cantidades y no afectan a la relación (Viskari, 2009).

El biogás es un recurso energético neutral de carbón, es decir que el biogás quemado libera solo la cantidad de CO_2 que tomó cuando la biomasa, a partir del cual se crea el gas, estaba creciendo.

El biogás está disponible donde sea que haya actividad biológica, siempre se formara aunque nosotros los humanos nos guste o no. Formado principalmente de metano y dióxido de carbono, el biogás es producido cuando el material biológico se biodegrada en condiciones anaeróbicas. Como se sabe el metano es un gas de efecto invernadero muy potente, 21 veces más que el dióxido de carbono, por lo que es prudente dejar que el metano se desvanezca en la atmósfera, pero para recoger y quemar con el fin de crear energía (Viskari, 2009). El uso de biogás no es un invento nuevo, ya que en 1897 en Exeter, Reino Unido, las farolas de la calle se encendían con el gas de las aguas residuales.

Este estudio va a mostrar cómo el biogás se forma a partir de estiércol de caballo y residuos biológicos con la ayuda de Equipos OxiTop® de TAMK Universidad de Ciencias Aplicadas. El segundo capítulo trata de la teoría detrás de la formación de biogás y las fórmulas para el cálculo de los importes de los totales de carbono, dióxido de carbono y el metano; el tercero se indican las pruebas realizadas en el laboratorio incluyendo los cálculos, resultados, conclusiones y recomendaciones para futuras pruebas (Viskari, 2009).

El método OxiTop® se basa en cambios de presión en los frascos graduados cuando la degradación anaeróbica se lleva a cabo. Las sustancias de la muestra se colocan en los frascos con una cantidad apropiada de agua destilada y sustancias adicionales, azúcar o lodo digerido en este experimento, y un agitador magnético en cada botella. Las botellas son colocadas en una cámara de incubación a una temperatura constante de 35°C en la oscuridad, en un sistema inductivo que mantiene las muestras en constante movimiento, aumentando así la tasa de producción de biogás (Viskari, 2009).

Como resultado, la formas de degradación anaeróbica de metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2), que conduce al aumento de la presión dentro del espacio de cabeza de las botellas de muestra a prueba de gas. Este cambio de presión se registra en intervalos de 160 minutos o 56

minutos de forma automática, dependiendo del tiempo de todo el experimento, pero también se puede medir manualmente cada vez (Viskari, 2009). Los resultados se almacenan en el cabezal de medición OxiTop®-C, como se ve en la figura 2, y desde allí se leen y se transfieren a un ordenador para el análisis con el OC controlador 110 que se puede ver en la figura 2 los resultados (Viskari, 2009).

Los cambios en las presiones nos permiten calcular la cantidad de carbono total producido y luego diferenciar entre el dióxido de carbono y el metano de acuerdo con las fórmulas de la Ley de Gases Ideales (Viskari, 2009). La diferenciación de metano y dióxido de carbono en el espacio de cabeza de las botellas de muestra es posible después de que el dióxido de carbono ha sido absorbido por un absorbente de CO₂, en este caso el hidróxido de potasio (KOH 30% v/v), se inyecta a través de una boquilla tabique en un tapón de goma en el matraz, se ve en la figura 4, con una jeringa de inyección (Viskari, 2009). Después de que el dióxido de carbono ha sido absorbido, en 18-24 horas, los restantes sobre la presión nos da los resultados necesarios para calcular la cantidad de metano producido. Por esta razón es preferible que el nivel de presión de la muestra alcance una etapa de meseta antes de la inyección de hidróxido de potasio con el fin de ver las diferencias de presión con precisión (Viskari, 2009).

El periodo de prueba se hizo con el fin de averiguar las cantidades apropiadas de estiércol de caballo y residuos biológicos para tener resultados legibles de los cambios de presión en las botellas de muestra. Se prepararon 11 muestras con diferentes mezclas de agua/muestra, se añadió el azúcar en algunas de las muestras para ver si el proceso de degradación se desarrollaría más rápido. Las muestras se dividieron de modo que las primeras muestras eran preparadas sólo con estiércol de caballo, luego las muestras con estiércol de caballo y los residuos biológicos, y finalmente las muestras sólo con residuos biológicos (Viskari, 2009).

Segunda Bibliografía:

La AME, además de ser usada para el seguimiento de la calidad del lodo en reactores anaerobios, es una herramienta que evalúa el comportamiento de la biomasa contaminada y determina la carga orgánica máxima que puede aplicarse a un sistema con el fin de examinar la capacidad de tratamiento, la toxicidad de determinados sustratos y la posibilidad de selección de inóculos.

Esta herramienta no cuenta con un protocolo estandarizado que facilite la comparación de resultados. Por tanto, el objetivo principal de este trabajo fue evaluar la influencia de las condiciones de incubación en el ensayo de la AME con el fin de estandarizar el protocolo (Ortiz Jordá, 2011).

Los métodos manométricos se basan en la medición de la presión ejercida sobre un sensor por el gas producido (biogás) que consiste principalmente en CH_4 y CO_2 . Uno de los sistemas más utilizados es el equipo OxiTop®. Utilizando este equipo se puede realizar una absorción del CO_2 mediante la adición de lentejas de NaOH . De este modo, la variación en la presión dentro del sistema, será únicamente debida al metano contenido en el biogás. Para comprobar que se ha producido la absorción completa del CO_2 se requiere de un análisis cromatográfico del biogás (Ortiz Jordá, 2011).

Los métodos volumétricos se basan en la determinación del volumen de biogás o CH_4 que se produce en un matraz de reacción que contiene el medio cuya AME se pretende analizar. Existen dos formas de determinar la cantidad de CH_4 producido: i) la medición del volumen y la composición del biogás; ii) la medición directa del volumen de metano tras hacer circular el biogás a través de una solución alcalina que absorba el CO_2 (Ortiz Jordá, 2011).

Tercera Bibliografía:

Se aplicó el proceso de digestión anaerobia para la obtención de biogás a partir de estiércol de cabras. Para ello se implementaron dos tipos de experimentos: El primero se efectuó mediante dos lotes utilizando matraces kitazato de cristal con una capacidad de 1 litro como depósito de la mezcla agua-excremento (Magaña, 2006). Los matraces kitazato se introdujeron dentro de una tina con agua calentada por una resistencia eléctrica para mantener la temperatura adecuada para el crecimiento de las bacterias metanogénicas (Magaña, 2006). El objetivo de esta experimentación fue determinar la producción diaria de biogás al utilizar estiércol de cabras. El segundo se efectuó mediante un biodigestor a escala de laboratorio. Para ello se procedió primero a pesar las bolitas de estiércol de cabras. En seguida se pasaron a un recipiente en donde se les agregó agua. Luego se procedió a deshacer las bolitas hasta alcanzar una mezcla homogénea y en estas condiciones cargar el biodigestor. El objetivo de esta experimentación fue determinar la cantidad de metano del biogás mediante análisis cromatográfico (Magaña, 2006).

Todos los residuos orgánicos (basura de cocina, restos vegetales y animales, excrementos, entre otros) son adecuados para ser fermentados anaeróbicamente (en ausencia de oxígeno). Las bacterias van consumiendo así el carbono y el nitrógeno y como resultado se produce una combinación de gases formado por un 70 % de metano, 20 % de anhídrido carbónico, un poco de monóxido de carbono y anhídrido sulfuroso (Magaña, 2006). La materia prima se mezcla en partes iguales con agua, se carga el biodigestor con la mezcla y de esta manera comienza el proceso. Al pasar un tiempo determinado, empiezan a producirse gases como producto de la digestión. Estos gases se van acumulando en el digestor, y su presencia y presión se registran mediante un manómetro (Magaña, 2006).

Cuarta Bibliografía:

Se empleó estiércol fresco de ganado vacuno, y cáscara de papa cortada finamente. Las variables independientes fueron relación estiércol: agua (1:1, 1:2 y 1:3), % (volumen/volumen) de agua de desagüe con respecto al volumen del biodigestor (6, 4 y 2), % (peso/volumen) de cáscara de papa con respecto al volumen de estiércol (9, 6 y 3). La variable dependiente fue el volumen de biogás producido (Barrena Gurbillón, 2009).

Los biodigestores fueron botellas de plástico de 1.75 L, las que se cargaron con la mezcla de componentes calculados de acuerdo a la distribución de valores de las variables a evaluar con el diseño estadístico de Box-Behnken para tres variables independientes, para obtener el mejor valor de cada variable. El volumen se completó con agua del caño reposada; luego a cada botella se colocó un tapón atravesado por una manguera de PVC de ¼", la cual se introdujo en una botella de plástico de 260mL, calibrada y marcada cada 50mL, llena de agua, libre de burbujas de aire y colocada invertida en una tina llena con agua, para colectar el biogás producido en cada biodigestor. Se realizaron tres repeticiones de 15 experimentos, durante 45 días cada una, siendo la variable respuesta el volumen de biogás producido (Barrena Gurbillón, 2009).

5.1.2.2 Análisis sobre los sustratos a usar

Para la primera prueba experimental con OxiTop se realizaron 6 muestras, las muestras eran: estiércol de vaca, residuos biológicos y aguas residuales. Los sustratos fueron elegidos en base a investigaciones científicas donde se comprobó que estos tres materiales son los que produjeron mayor cantidad de metano.

Las concentraciones a utilizar se eligieron en base a una revisión bibliográfica, donde se

recomienda que los volúmenes del sustrato no sean muy grandes, porque las pruebas indican que a una mayor cantidad de metano se necesita poco sustrato, a mayor sustrato hay menos espacio para el gas y la producción se hace más lenta.

El uso de una base durante la producción de biogás es para que absorba todo el dióxido de carbono y demás gases, y asegurar que solo haya metano dentro de la botella. En algunas pruebas experimentales agregaron KOH y provocó una baja en la presión del metano por lo que no se recomienda usarlo, solo en cantidades muy bajas (0.5ml de solución KOH) (Viskari, 2009). Se usará cuando la producción de gas sea excesiva y se quiera bajar la presión en la botella de muestra. Para observar que tanto afecta la presión, se utilizó NaOH como base y se agregó desde el inicio del experimento, se eligió en base a la investigación, pues nos indica que es seguro la absorción de otros gases dejando solamente el metano (Barrena Gurbillón, 2009).

5.1.2.3 Planteamiento de la Metodología

La metodología inició con el planteamiento de los objetivos, los cuales se eligieron según las metas principales a alcanzar. Después de los objetivos, se planteó los materiales en los cuales se escribió el sustrato a utilizar. Luego siguió la metodología donde se explicó el tipo de muestra y a que concentración debía usarse, escribí las condiciones en las cuales se debía mantener el experimento, el tiempo de duración, y el usar NaOH. Seguido de la metodología continué con las recomendaciones las cuales las obtuve de algunos autores de la revisión bibliográfica.

A continuación esta la metodología planteada para la primera prueba.

Objetivo General:

- Desarrollar una metodología para la determinación de metano utilizando OxiTop OC 110 para sus lecturas de presión.

Objetivos Específicos:

- Analizar la producción de metano en una línea de tiempo en minutos en el período de prueba, para la realización de curvas de calibración.
- Observar y analizar cual sustrato y a que concentración se produce una mayor cantidad de metano.
- Calcular la producción de metano, con la fórmula de Ley de Gases Ideales.

Materiales

Sustrato a utilizar

- Estiércol de animal (mejor si es: vaca, caballo o cabra)
- Aguas ricas en nutrientes
- Aguas residuales
- Residuos Biológicos (cascará de papa y zanahoria, todo tipo de vegetales picados finamente)

*Tomar en cuenta que los mejores resultados se han obtenido con aguas residuales y residuos biológicos, específicamente cascará de papa.

Metodología

La primera prueba va a consistir en 11 muestras las cuales se dividen de la siguiente manera:

- ✓ Dos blancos (agua destilada sin burbujas)
- ✓ Tres muestras de estiércol con concentraciones de: 500mL, 300mL, y 200mL.
- ✓ Tres muestras de agua residual con concentraciones de: 500mL, 250mL, y 150mL.
- ✓ Tres muestras de residuos biológicos con concentraciones de: 500mL, 200mL, y 100mL.

Para las condiciones de trabajo, se debe mantener una temperatura constante entre los 35-37°C es preferible 35°C esto es para favorecer la producción de bacterias metanogénicas.

El tiempo de prueba durará entre 6 a 10 días por muestra, esto es para tener un rango más amplio de tiempo y observar el comportamiento de producción de biogás en las botellas. La toma de lecturas se realizará cada 120 minutos, esto se basa en pruebas experimentales donde el trabajo se realizó en un rango de tiempo en minutos, para obtener un mayor margen en la curva de calibración sobre la producción de metano.

Hay que tener muy claro lo que se desea obtener en el resultado final, si una producción de biogas (mezcla de metano y dióxido de carbono) o bien solo metano. Si el resultado final que se desea es metano, se debe proporcionar lentejas de NaOH para que absorba el CO₂ y así asegurarnos que las lecturas serán solo de metano “Uno de los sistemas más utilizados es el equipo OxiTop®. Utilizando este equipo se puede realizar una absorción del CO₂ mediante la adición de lentejas de NaOH. De este modo, la variación en la presión dentro del sistema, será únicamente debida al metano contenido en el biogás.” (Ortiz Jordá, 2011).

Recomendaciones de pruebas experimentales utilizando OxiTop para la determinación de biogás y metano:

- En pruebas experimentales es un hecho que se obtiene una mayor producción de biogás usando cascará de papa como residuo biológico, estiércol y aguas residuales.
- A mayor cantidad de aguas residuales o estiércol, se reduce la producción de biogás, “se deduce que aumentando el volumen de agua de desagüe no se logra incrementar el volumen de biogás producido; y los mayores volúmenes de biogás se han obtenido con el valor más alto de la variable cáscara de papa propuesto para la presente investigación” (Barrena Gurbillón, 2009).
- Es importante mantener una temperatura de 35°C para la producción de bacterias metanogénicas. “Los kitazatos se introdujeron dentro de una tina con agua calentada por una resistencia a fin de mantener la temperatura apropiada (35 °C- 37 °C) para el crecimiento de las bacterias metanogénicas” (Barrena Gurbillón, 2009)

- Se recomienda adicionar lentejas de NaOH para que el dióxido de carbono sea absorbido y solo quede metano.
- Asegurar la ausencia de oxígeno en el espacio de la cabeza, se debe burbujear con gas N₂ para eliminar burbujas (Ortiz Jordá, 2011).
- Se debe tener en cuenta el valor del límite del OxiTop para realizar las pruebas, por si hay necesidad de aireación.

5.1.2.4 Primera Prueba de Biogás

Ecosistemas cuenta con equipo para la medición de presión en el cual se puede medir la producción de biogás o metano, el equipo que se utilizó fue el OxiTop OC 110. El cual es igual al equipo del DBO, con la única variación del tipo de botella la cual es transparente y tiene dos boquillas con unos tabiques de tapón. El equipo cuenta con unos cabezales de medición, un control (OC 110), botellas de vidrio, y agitadores magnéticos.



Fig. No. 28 Botellas para producción de biogás (Trabajo de campo, 2015)



Fig. No. 29 Control del OxiTop OC 110
(Trabajo de campo, 2015)



Fig. No. 30 Cabezal de Medición
(Trabajo de campo, 2015)

El equipo completo tiene la capacidad para la medición de seis muestras a la misma vez; la metodología se planteó para 11 muestras, pero dadas las circunstancias las muestras se redujeron a solo seis; se quitaron los blancos y solo se hizo una concentración de cada sustrato y se repitió la muestra en otra botella. En una botella agregamos el NaOH y en la otra no, esto se hizo con el fin de determinar que tanto varía la producción uno de otro, y si funciona realmente la base dejando solo la producción de metano.

Para la primera prueba tuvo una duración de seis días, se metieron en una incubadora a una temperatura constante de 36°C, con una agitación constante. La preparación de las muestras fue de la siguiente manera:

- Para las muestras con cascará de papa, la cortamos en trozos muy pequeños, luego los licuamos con un poco de agua para hacerlo lo más fino posible.
- Para las muestras de estiércol utilizamos estiércol de vaca, se utilizó una relación 1:1 y se fue deshaciendo en el agua para que quedará lo más líquida posible.
- Para las muestras de aguas residuales, no se filtraron y se usaron de esa manera, no tuvieron ninguna preparación previa.

Al final nos quedaron las seis botellas de la siguiente manera:

- Dos Muestras de estiércol (una con NaOH, y la otra sin nada) con una concentración de 300mL cada una.
- Dos muestras de agua residual (una con NaOH, y la otra sin nada) con una concentración de 250mL cada una.
- Dos muestras de cascará de papa (una con NaOH, y la otra sin nada) con una concentración de 100mL cada una.

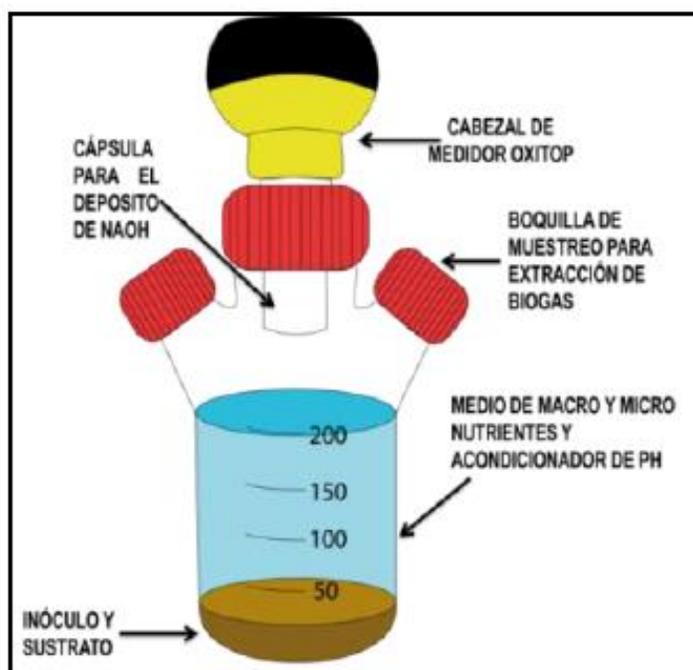


Fig. No. 31 Botellas finalizadas con el sustrato, listas para iniciar la medición de metano (Ortiz Jordá, 2011)

Desde que se inició la prueba se tomó la primera medición de presión, cada día se tomó la presión de todas las muestras durante la mañana y antes de salir, para tener un control y de cómo se comportaba la presión dentro de las botellas.

5.1.2.5 Cálculos Utilizados para Producción de Biogás

La fórmula que se emplea para averiguar cuanto volumen se produjo de biogás y/o metano es con la Ley de Gases Ideales. La fórmula original es: $P \cdot V = n R T$

Suponiendo que todo el dióxido de carbono fue absorbido, el número de moles generados a la presión y temperatura de ensayo se ha calculado de la siguiente manera:

$$n_{\text{generado}}^{\text{CH}_4} = \frac{P \cdot V^{\text{EC}}}{R \cdot T}$$

Donde:

P es el incremento de la presión registrada por el OxiTop® en atm.

V^{EC} es el volumen del espacio de cabeza en litros.

R la constante de los gases ideales en $\text{atm} \cdot \text{L} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$

T la temperatura de ensayo en Kelvin.

Cuando se conoce el número de moles de metano generado se pueden conocer los litros de metano generado.

$$V_{\text{generado}}^{\text{CH}_4} (\text{ml}) = \frac{n_{\text{generado}}^{\text{CH}_4} \cdot R \cdot T}{P}$$

Donde:

P es el incremento de la presión registrada por el OxiTop® en atm.

n^{CH₄} son los moles de metano generados

R la constante de los gases ideales en $\text{atm} \cdot \text{L} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$

T la temperatura de ensayo en Kelvin.

Esta fórmula se aplica de igual manera a la producción de biogás, es decir, cuando no se le agrega ninguna base.

5.2 Resultados y Aprendizajes Alcanzados

5.2.1 Validación de Métodos Analíticos Colorimétricos

Por política de la empresa no se puede hacer público los resultados obtenidos en las pruebas de acreditación, pero se puede decir que las pruebas fueron satisfactorias para la empresa.

Para los procesos de acreditación es muy importante la precisión y exactitud de la persona encargada a la hora de realizarlos, pues son el éxito para alcanzar pruebas satisfactorias y además las pruebas demandan resultados confiables, concentración, y sobre todo disciplina.

Los aprendizajes alcanzados fueron:

- Conocer el proceso sobre la validación de un método analítico.
- Investigar y analizar los distintos métodos para validar.
- Aplicar conocimientos sobre análisis químicos colorimétricos y perfeccionarlos para lograr resultados satisfactorios.
- Ampliar mis conocimientos sobre Excel utilizando nuevas fórmulas químicas y matemáticas.
- Aprender a realizar, analizar e interpretar correctamente una curva de calibración.
- Utilizar Distribución de Fisher o t-Student para realizar ajustes dentro de una curva de calibración y aplicarlos en el laboratorio.
- Analizar e interpretar resultados del laboratorio y cálculos en Excel para las pruebas de acreditación.
- Aprender a tener precisión a la hora de hacer concentraciones a partir de una solución patrón.
- Mejorar las habilidades técnicas dentro del laboratorio.
- Aprender a adquirir un criterio propio sobre análisis químicos e interpretación de resultados.

5.2.2 Determinación de Biogás y Metano

Al igual que la validación de métodos analíticos, los resultados del Biogás corresponden a la empresa y no deben ser publicados, pero cabe decir que los objetivos de la primera prueba fueron alcanzados.

Al ser un tema nuevo fue un reto comenzar desde cero, sin embargo fue gratificante llevar a cabo un proyecto y hacer que se desarrolle. El biogás por ser un gas utilizado como combustible, son muchas las opciones que se tiene para poder crear una combustión verde (amigable con el ambiente) y evitar emisiones de metano a la atmosfera.

El aprendizaje que obtuve de este proyecto fue:

- Desarrollar un proyecto que sea útil para Ecosistemas y a la vez que sea rentable.
- Crear metodologías para pruebas experimentales dentro de un laboratorio en base a revisiones bibliográficas.
- Investigar sobre dicho tema y tener un criterio propio para crear una metodología y llevarla a cabo.
- Aprender a utilizar el equipo de OxiTop OC 110 y crear curvas de producción de gas en Excel.
- Analizar resultados y hacer una segunda prueba pero con mejores resultados para la empresa.
- Llevar un control en los resultados y analizar el comportamiento de la producción de gas para compararlos con otros estudios.
- Observar y analizar cual sustrato y a que concentración se produce una mayor cantidad de metano.

5.3 Lecciones Aprendidas

El aprendizaje fue amplio debido a que eran proyectos nuevos en los que tuve que investigar y ser cuidadosa a la hora de llevarlos a cabo. Los retos que se me presentaron fueron varios, debido a que no sabía nada de los temas, pero sin embargo tenía las bases técnicas para llevarlos a cabo. Los dos proyectos los empecé desde cero, tuve que investigar sobre los dos y enriquecer mi conocimiento sobre los mismos; esto me condujo a obtener lecciones aprendidas, las cuales fueron:

- Aprendí la importancia de estar siempre informado sobre un tema de interés. Siempre se debe de hacer una revisión bibliográfica a fondo, y cerciorarse que las fuentes sean fidedignas; antes de empezar cualquier tipo de trabajo se debe estar informado lo más que se pueda, no solo leer sino entender y crear un criterio propio sobre los estudios.
- Aprendí a realizar análisis colorimétricos con el menor error posible en sus resultados, la utilidad de una curva de calibración y de cómo corregir un método si tiene algún problema que pueda afectar los resultados.
- Aprendí a manejar correctamente el programa de Excel, y de cómo realizar todo tipo de ecuación. También hacer ajustes lineales y cuadráticos dentro de una curva de calibración.
- Llevar a cabo un proyecto y desarrollarlo de la mejor manera posible para obtener resultados positivos y mejorarlos, si es necesario.
- Aprendí lo útil que es tener base técnica y lo importante que es forjar un criterio propio para poder llevar a cabo proyectos. También lo importante de tener disciplina y ser ordenado en cada proceso.

6. CONCLUSIONES

Se obtuvo un aprendizaje positivo y se forjó más el conocimiento técnico al confrontar al estudiante en una práctica directa empresarial.

Se participó en dos proyectos que se pueden aplicar a Acuicultura para obtener resultados confiables sobre calidad del agua, y crear fuentes de energías amigables con el ambiente cuidando siempre de los recursos hidrobiológicos.

Se integraron conocimientos tanto estadísticos, como matemáticos, y técnicas de laboratorio aplicándolos en nuevos proyectos dentro de Ecosistemas. Además se ampliaron los conocimientos con nuevas metodologías creando un proceso de enseñanza-aprendizaje.

Se adquirieron experiencias tanto teóricas como prácticas, sobre nuevos temas que se pueden aplicar a la carrera de Técnico en Acuicultura. Además se propició dentro de la empresa valores morales y éticos, con la confidencialidad de los resultados obtenidos.

7. RECOMENDACIONES

Para los métodos de validación se recomienda realizar con mínimo de diez pruebas con resultados satisfactorios para que OGA acredite el método analítico. Además que sea una sola la persona que realice las pruebas para disminuir el porcentaje de error dentro de los resultados.

Para el biogás, se recomienda que para futuras pruebas se utilice cuatro lentejas de NaOH para evitar que caiga la presión dentro del frasco.

También se recomienda utilizar volúmenes más pequeños, menores a 200mL, con una dilución mayor del sustrato, esto es para obtener una mayor producción de metano y biogás.

Las muestras para el biogás deben estar lo más líquidas posibles, esto es para que no se interrumpa el sistema de agitación dentro de la botella y afectar la producción del gas.

Siempre se recomienda mantener una temperatura entre 35 – 37°C lo más constante posible, esto es para propiciar el crecimiento de bacterias metanogénicas dentro del sistema.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Barrena Gurbillón, M. (2009). *Parámetros para producir biogás en laboratorio con estiércol de bovino, agua de desagüe y cascara de papa*. Brasil: Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos de Animais [SIGERA].
2. Duffau, B., Rojas, F., Guerrero, I., Roa, L., Rodríguez, L., Soto, M., Aguilera, M., y Sandoval, S. (2010). *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: Aspectos generales sobre la validación de métodos*. Santiago, Chile: Instituto de Salud Pública.
3. Ecosistemas. (2015). *Ecosistemas: Proyectos ambientales* [en línea]. Recuperado diciembre 10, 2015, de <http://www.ecosistemas.com.gt/es/servicios/>
4. Google. (2015). *Bodegas de Zaragoza II, Zona 4, Mixco, Guatemala. Ruta por el Periférico y San Juan* [en línea]. Recuperado diciembre 10, 2015, de <https://www.google.com/maps/place/Ofibodegas+Zaragoza/@14.643829790.5649354.17z/data=!4m7!1m4!3m3!1s0x8589a032e0d89305:0x58c55e370b18c395!2sOfibodegas+Zaragoza!3b1!3m1!1s0x8589a032e0d89305:0x58c55e370b18c395>
5. HACH. (2015). *Nitrógeno, total, TNT, de 10 a 150 mg/L de N* [en línea]. Recuperado diciembre 10, 2015, de <http://es.hach.com/nitrogeno-total-tnt-de-10-a-150-mg-l-de-n/product?id=25144106389&callback=qs#>
6. Magaña, L. (2006). *Producción de biogás a nivel laboratorio utilizando estiércol de cabra*. México: Universidad de Guanajuato.
7. Merck. (2012). *Merck Millipore* [en línea]. Recuperado diciembre 10, 2015, de https://www.merckmillipore.com/CO/es/product/Rectangular-cells-quartz,MDA_CHEM-100784
8. Organismo Argentino de Acreditación [OAA]. (2013). *Guía para validación de métodos de ensayo*. Argentina: Autor.

9. Ortiz Jordá, V. (2011). *Puesta a punto de una metodología para la determinación de la Actividad Metanogénica Específica (AME) de un fango anaerobio mediante el sistema Oxitop influencia de las principales variables experimentales*. España: Universitat Politècnica de Valencia .
10. Productos Merck Millipore. (2012). *Análisis colorimétricos* [en línea]. Recuperado diciembre 10, 2015, de https://www.merckmillipore.com/CO/es/products/vMqb.qB.GdEAAAE_Mhd3.Lxj.nav
11. Trejo, F., y Pérez, J. (2005). *Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*. México: Centro Nacional de Metrología [CENAM].
12. Viskari, E. L. (2009). *Initialization of the oxitop system for biogas production tests*. Germany: TAMK University of Applied Sciences.

9. ANEXOS

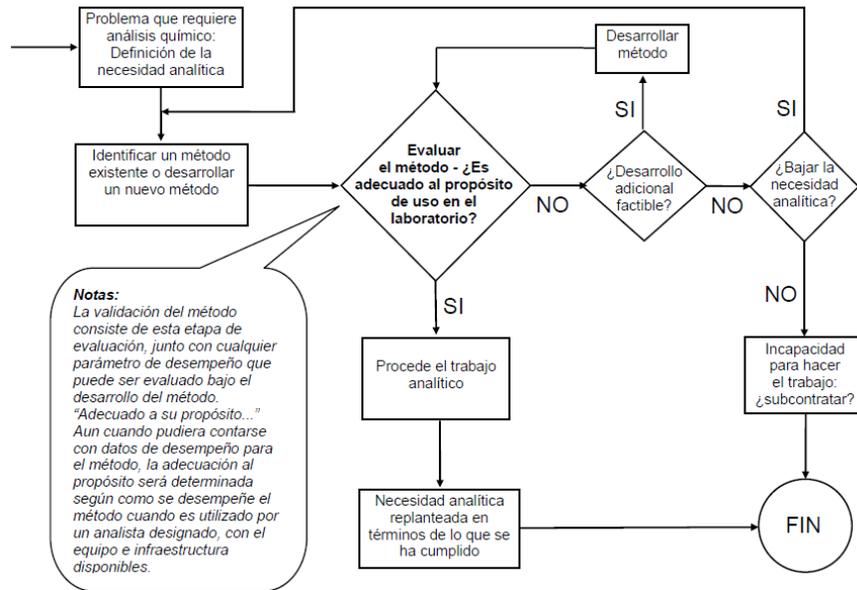


Fig. No. 32 Elección, desarrollo y evaluación de métodos (Trejo & Pérez, 2005)



PLAN DE VALIDACION

Nº: _____

1) Alcance de la validación:

Método:

Analito:

Matrices:

Requerimientos del método:

Tipo: Validación retrospectiva Validación prospectiva Verificación

Procedimiento de validación:

2) Diseño experimental:

[Señalar Matrices de las muestras; Testigos reactivos, Blanco matriz, Material de referencia y/o Material de referencia certificado, Muestras fortificadas y niveles de fortificación.

Indicar las prueba(s) y parámetro(s) de validación a evaluar, número de análisis requeridos según prueba(s) y criterios de aceptabilidad para cada parámetro de validación

Señalar analista(s) responsable de realizar la(s) prueba(s) analítica(s) y Fecha(s) programadas]

Fig. No. 33 Plan general de Validación (Duffau, y otros, 2010)

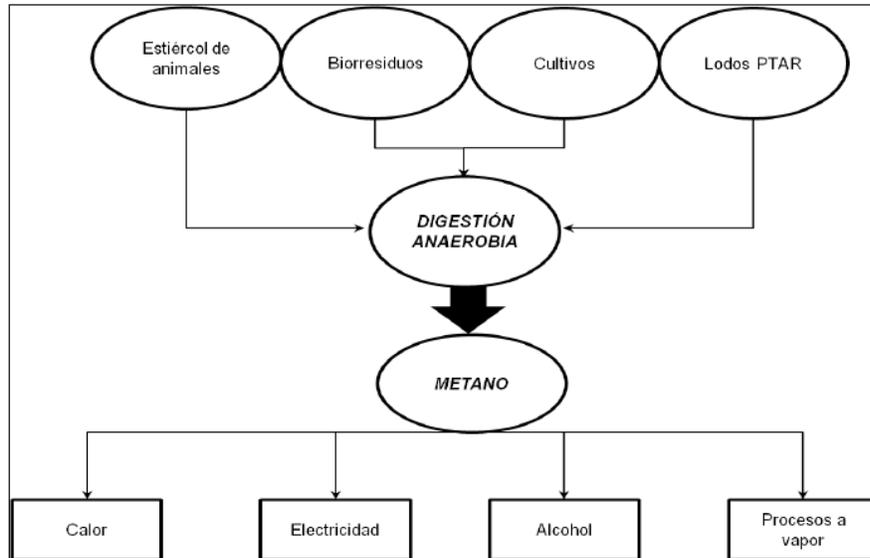


Fig. No. 34 Proceso de obtención de metano (Magaña, 2006)



Fig. No. 35 Equipo de Medición de biogás, OxiTop OC 110 (Viskari, 2009)